

Elaboración de dietas artificiales para el cultivo del caracol manzana (*Pomacea bridgesi*)

Mendoza, R., C. Aguilera, M. Hernández, J. Montemayor y E. Cruz

Grupo Ecofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León
Apartado Postal F-96, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., C.P. 66450 México

Resumen

El presente estudio se emprendió con el propósito de conocer el potencial de cultivo del caracol manzana (*Pomacea bridgesi*). En primer término, se realizó un bioensayo con el fin de determinar la proporción de proteína animal/proteína vegetal (PA/PV) más adecuada en dietas artificiales para el cultivo de estos organismos. Utilizando harina de pescado como fuente de proteína animal (PA) y una combinación de lechuga y espinaca acuática como fuente de proteína vegetal (PV), se elaboraron 5 dietas con diferentes proporciones de PA/PV (100/0; 75/25; 50/50; 25/75; 0/100). Las dietas fueron ajustadas a 25% de proteína y 300 Kcal/100 g. Para cada dieta se utilizaron 10 caracoles por acuario con 4 repeticiones. Se observaron diferencias significativas en el crecimiento de los caracoles (incremento de longitud de la concha ILC y tasa de crecimiento específico TCE), destacando los tratamientos que contenían ambas fuentes de proteína (PA/PV: 75/25; 50/50; 25/75). Al considerar el aprovechamiento nutricional de las dietas (tasa de conversión alimenticia TCA y tasa de eficiencia proteica TEP) la dieta 75/25 (PA/PV) ofreció los mejores resultados. Las dietas formuladas con una sola fuente de proteína (PA/PV: 100/0; 0/100) mostraron el menor desempeño para todas las variables. A continuación se realizó un experimento para determinar la influencia del proceso de elaboración de las dietas en el crecimiento del caracol manzana. Se comparó una dieta elaborada por peletizado (P) con otra elaborada por extrusión seca (ES), teniendo ambas la formulación de la dieta 75/25 (PA/PV) del experimento anterior. Estas dietas suministradas a caracoles en dos sistemas de cultivo cuya diferencia estribó en la adición de láminas acanaladas para aumentar el área de desplazamiento de los caracoles en uno de los sistemas. Contando con 2 repeticiones para la dieta EH en sistema con láminas y 2 en sistema sin láminas, y de igual modo para la dieta ES. Se utilizaron 592 caracoles repartidos aleatoriamente en los 4 tratamientos. A pesar de no haberse registrado diferencias significativas en cuanto al crecimiento (ILC y TCE) entre las dietas EH y ES, se observó una tendencia al mejor aprovechamiento (TCA y TEP) de la dieta ES. En cuanto al sistema de cultivo, aunque las diferencias no fueron significativas, se apreció un mayor crecimiento (ILC) en el sistema sin láminas. A partir de estos resultados se puede señalar que el caracol manzana puede aprovechar las fuentes de proteína animal, a pesar de ser considerados como herbívoros generalizados. Por otra parte, debido a la forma de alimentarse, resulta indistinto el procesamiento de las dietas artificiales (peletizadas o extruídas en seco). La buena aceptación de las dietas artificiales con la adecuada proporción de PA/PV permitió obtener crecimientos superiores a los anteriormente reportados. De igual forma los sistemas de cultivo utilizados mostraron ventajas sobre aquellos anteriormente utilizados con lo que se resuelven algunas limitantes o cuellos de botella que limitaban el desarrollo del cultivo comercial del caracol manzana.

Abstract

A series of feeding experiments was carried out with juvenile apple snails (*Pomacea bridgesi*) to know the culture potential of this species. The first experiment was aimed to determine the growth performance and adaptability of apple snails to diets containing different proportions of animal (fishmeal) and a combination of vegetable protein sources (dehydrated lettuce and freshwater spinach). Five diets with different proportions of animal protein (AP) and vegetable protein (VP) were compared (D1=100/0; D2=75/25; D3=50/50; D4=25/75 and D5=0/100). Diets, adjusted to have a content of 25% protein and 300kcal/100g, were fed to quadruplicate groups of 10 apple snails. Results indicated a significant higher growth, expressed by shell length increase (SLI) and specific growth rate (SGR) of individuals fed diets D2, D3 and D4. However, D2 exhibited the best nutritional value, in terms of feed conversion rate (FCR) and protein efficiency ratio (PER). Those diets formulated with a single protein source (D1 and D5) showed the lowest performance for all variables considered. In a second experiment the influence of extruded (E) and pelleted (P) diets on the growth performance of apple snails was compared. Both diets were formulated on the basis of D2 of the previous experiment (AP75/VP25). These diets were tested in two distinct culture systems, the main difference consisted in the addition of fluted plates in one of the systems to increase the displacement surface of snails. Diets were offered to duplicate groups of apple snails for each culture system. 592 individuals were randomly assigned to the four treatments: Extruded diet-simple system (E-SS); Extruded diet-fluted plates system (E-FPS); Pellet diet-simple system (P-SS) and Pellet diet-fluted plates system (P-FPS). No significant differences in growth (SLI and SGR) were registered for the E and P diets, however a trend to a better performance in terms of FCR and PER was noticed for animals fed the E diet. Snails perform similarly in both culture systems, however a higher growth (SLI) was observed in the simple system (SS). These results indicate that the nutritional requirements of apple snails can be satisfied with a considerable proportion of animal protein source, despite traditionally being considered as herbivores. Benefit of diet process could not be appreciated due to the feeding habits of this species. Growth rates achieved in both experiments with artificial diets containing an adequate Ap/Vp proportion are far superior than those regularly obtained under laboratory conditions.

and even than those observed in the wild. The culture systems tested showed several advantages over those used in other studies. The rapid growth rate attained and the ready acceptance of artificial diets suggest that the species can be cultured under intensive culture conditions.

Introducción

Los moluscos son organismos sedentarios o de lento movimiento, por lo cual son susceptibles de ser predados con gran facilidad, esto ha ocasionado que algunas especies se encuentren amenazadas debido a la intensa explotación a la que han estado sometidas. Paradójicamente, aunque se encuentran entre los organismos acuáticos que proporcionan mejores rendimientos en condiciones de cultivo, el número de especies que se explotan en sistemas controlados es aún muy reducido. De estos aspectos se deriva la importancia de cultivar algunas especies de moluscos con potencial en la acuicultura y particularmente de aquellas especies que presentan diversas ventajas adaptativas para desarrollarse en condiciones de confinamiento; tal es el caso de los gasterópodos del género *Pomacea* (*Ampullaridae*).

Los caracoles manzana o "tegogolos" *Pomacea* spp. (Banarescu, 1990), son moluscos de agua dulce comunes en las zonas tropicales de América, los cuales presentan varias características que los hacen candidatos para ser cultivados: son herbívoros, por lo tanto son eficientes convertidores de energía, son prolíficos y se reproducen todo el año, pueden ser manejados en combinación con otras especies, soportan un amplio rango de condiciones ambientales, tienen un mercado local bien establecido y bajo condiciones controladas de cultivo es posible evitar enfermedades o parásitos que pueden ser transmitidos a partir de organismos silvestres (Asian y Olguín, 1995). En adición a esto, el caracol manzana posee otras cualidades deseables que lo hacen atractivo para su cultivo. La característica más importante es el rápido crecimiento que pueden obtener en la naturaleza (hasta 145 mm) (Burky, 1974), lo cual significa mayor cantidad de músculo en comparación con otras especies de caracoles más pequeños. Su naturaleza anfibia le permite tolerar aguas con bajo contenido de oxígeno y soportar el asinamiento, lo cual indica su potencial de cultivo. Una fecundidad relativamente alta, un elevado porcentaje de eclosión, baja mortalidad, un periodo de desarrollo corto y un estado de eclosión avanzado (Lum-Kong y Kenny, 1989), aumentan las perspectivas para su cultivo. La posibilidad de permanecer largos periodos fuera del agua (Burky, 1972), permite un mejor manejo y transportación al mercado, ocasionando baja mortalidad. Lo cual puede significar una reducción considerable en los costos de manejo y transporte (Lum-Kong, 1989). Este género también ha recibido considerable atención debido a su potencial como alimento para el hombre (Lum-Kong y Kenny, 1989), como fuente proteica para otros animales acuáticos (Bombeo-Turban *et al.*, 1995), así como por su eficacia como agente biológico contra malezas acuáticas (Cazzaniga, 1981 y 1983) y contra gasterópodos transmisores de esquistomiasis (Cazzaniga, 1990; Estebenet y Cazzaniga, 1992).

En la naturaleza el caracol manzana se alimenta preferentemente de vegetación macrofítica (Estebenet, 1995), mientras que en condiciones controladas de cultivo ha sido alimentado tradicionalmente de materia vegetal (Estebenet y Cazzaniga, 1992). En general, este tipo de alimento es difícil de almacenar, presenta calidad nutricional variable y en ciertas épocas no está disponible. Por lo tanto, el desarrollo de una dieta práctica es deseable para el cultivo intensivo del caracol manzana. En este sentido, mediante estudios previos hemos mostrado que el caracol manzana cuenta con un espectro de enzimas digestivas, proteasas ácidas y alcalinas principalmente, que le permiten utilizar adecuadamente dietas complejas, cuya utilización en condiciones experimentales puede producir tasas de crecimiento (hasta 14 mm/mes), superiores a las alcanzadas con la utilización de materia vegetal como fuente de alimento e incluso mayores a las tasas de crecimiento observadas en condiciones naturales. De igual forma, utilizando dietas semi-puras, mostramos que los requerimientos de proteína para juveniles de caracol manzana se encuentran entre el 20 y 30% de la dieta, mientras que las dietas con una energía mayor de 250 kcal/100 g no resulta en un mejor crecimiento. Por lo cual determinamos que el balance óptimo en una dieta para crecimiento de caracol manzana debe ser de 85 mg de proteína por Kcal de energía (Aguilera, 1996; Mendoza *et al.*, 1999).

16 Objetivos

Considerando este contexto, los objetivos de este trabajo han sido enfocados a la formulación de dietas artificiales complejas que puedan ser utilizadas para el cultivo comercial del caracol manzana. De manera particular, se prestó atención a la determinación de la proporción entre proteína animal/proteína vegetal más adecuada para una dieta artificial. Igualmente, se estudiaron las ventajas potenciales que ofrece la utilización de dietas extruídas contra dietas peletizadas, y se probó un sistema de cultivo piloto para la producción intensiva de caracol manzana.

16 Material y métodos

• Proporción de Proteína Animal/Vegetal

Formulación y elaboración de las dietas.

Para la realización de esta fase se formularon cinco dietas compuestas las cuales fueron elaboradas en base a la incorporación de diferentes proporciones de proteína vegetal y proteína animal (Tabla I): Como fuente de proteína vegetal se utilizaron hojas de espinaca acuática (*Ipomoea aquatica*) obtenida del CRECIDAC en Orizaba, Veracruz, en combinación con hojas de lechuga (*Lactuca sativa*) obtenidas de los mercados locales, siendo necesaria en este caso la mezcla de estos dos ingredientes para alcanzar el porcentaje de proteína vegetal requerido en la formulación. Ambos vegetales fueron deshidratados y molidos antes de ser incluidos en las dietas. Como fuente de proteína animal se utilizó harina de pescado de la marca PROESA.

Tabla I: Relación de fuentes proteicas para la elaboración de las dietas experimentales

Dieta	% de Proteína Animal	% de Proteína Vegetal	Relación Espinaca/Lechuga	
1	100	0	-	-
2	75	25	1	1,29
3	50	50	1,12	1
4	25	75	1,22	1
5	0	100	1,48	1

A los ingredientes utilizados para formular las dietas se les realizó un análisis proximal mediante los métodos estándar de la AOAC (A.O.A.C., 1990). Los ingredientes para las dietas fueron molidos, tamizados y mezclados. La mezcla fue peletizada con un molino de carne para producir pellets de 1,5 mm de diámetro. Las dietas peletizadas fueron secadas a 80°C durante 1 hora, colocadas en bolsas de plástico, las cuales fueron almacenadas a -20°C y dos días antes del experimento se transfirieron a un refrigerador. Las dietas fueron ajustadas a 300 Kcal/100 g de energía y 25% de proteína con la finalidad de obtener dietas isocalóricas e isoprotéicas. Una vez terminadas las dietas se analizaron utilizando los métodos descritos anteriormente para verificar que el contenido de nutrientes fuera el indicado en la formulación.

Condiciones experimentales.

Al inicio del bioensayo se seleccionaron 200 caracoles juveniles de talla uniforme, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 20 acuarios de cristal. Cada dieta fue suministrada a 4 grupos de 10 caracoles mantenidos en acuarios de 25 litros (50 x 25 x 25 cm), equipados con un sistema de aireación alimentado por un compresor y provistos de agua dulce libre de cloro. Dos tercios del agua fueron sustituidos diariamente para eliminar las heces y mantener la calidad del agua. Durante el periodo experimental el oxígeno disuelto se mantuvo por encima de 6,0 ppm, la temperatura permaneció de 26 a 28°C, el pH del agua varió entre 8,0 y 8,2 y se mantuvo un fotoperiodo de 12 h luz/oscuridad.

Diseño experimental.

Los 200 organismos se seleccionaron en base a su peso inicial promedio de $1,58 \pm 0,17$ g y una longitud inicial promedio de $19,29 \pm 0,80$ mm. Se verificó la uniformidad morfométrica de los organismos (pesos y tallas iniciales) después de un período de ayuno de 24 h, por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA). Para probar cada una de las dietas se utilizaron cuatro acuarios (repeticiones). Los tratamientos fueron asignados al azar en los diferentes acuarios. Las dietas fueron suministradas diariamente a un 6% de la biomasa. Además de la evaluación morfométrica inicial, los animales fueron medidos y pesados a los 7, 14 y 21 días con la finalidad de ajustar la cantidad de alimento.

VARIABLES PARA EVALUAR LAS DIETAS.

Al finalizar el experimento los caracoles fueron pesados y medidos nuevamente de manera individual. Los animales fueron secados antes de pesarlos en una balanza Sartorius con 0,01g de exactitud. La longitud de la concha (del ápice de la concha al extremo basal del opérculo) fue medida con un vernier de 0,1 mm de exactitud. Cada dieta fue evaluada en función de las siguientes variables: Tasa de Crecimiento Específico (TCE), Incremento de Longitud de la Concha (ILC), Tasa de Conversión Alimenticia (TCA), Tasa de Eficiencia Proteica (TEP) y Porcentaje de Supervivencia (S).

Análisis de resultados.

Para determinar la existencia de eventuales diferencias entre los tratamientos, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), para cada una de las variables determinadas, y en el caso de existir diferencias significativas se realizó una prueba de rango múltiple Duncan para separar los grupos homogéneos con un nivel de significancia de 0,05.

● **Determinación de la Digestibilidad**

Dietas experimentales.

Se elaboraron 9 dietas para estimar la digestibilidad de las 5 dietas con diferente relación de proteína animal/proteína vegetal y de cuatro ingredientes (harina de pescado, lechuga, espinaca y celulosa). Para la elaboración de las dietas se utilizó la dieta 3 del experimento anterior como dieta de referencia. Cada dieta estuvo compuesta por un 70% de la dieta de referencia y un 30% de la dieta o ingrediente experimental. Para determinar la digestibilidad de las dietas e ingredientes se utilizó óxido de cromo incluido al 1% en la dieta como marcador (Cho, 1987).

Diseño experimental.

Se establecieron nueve tratamientos, cada uno con tres repeticiones (acuarios), los cuales fueron asignados aleatoriamente. Se colocaron 15 individuos de caracol manzana por acuario, con una talla promedio de 2,5 cm. Durante la fase de aclimatación (3 días) fueron alimentados con la dieta experimental sin el marcador. Durante el cuarto día se mantuvieron en ayuno para eliminar el alimento no marcado, para asegurar que el tracto digestivo se encontrara vacío. A partir del quinto día se utilizó el alimento preparado con el marcador y se inició la recolección de heces por sifoneo. La colecta de heces se realizó después de 230 minutos a partir de la ingestión, tiempo promedio de tránsito intestinal estimado para esta especie (Aguilera, 1996). Las heces se depositaron en frascos de vidrio y fueron congeladas de manera extemporánea.

Determinación de la Digestibilidad.

Para su análisis las heces fueron secadas en una estufa a 70°C durante 12 h y posteriormente molidas en un mortero. Se utilizó el método Kjeldahl para la estimación de la proteína en las heces, reemplazando los reactivos de digestión por el reactivo de la técnica de Bolin (Nieto et al., 1997). El contenido de óxido de cromo de las dietas y de las heces fue evaluado por triplicado mediante un espectrofotómetro (a 350 nm), para lo cual se realizó una curva estándar entre 1 y 7 mg de óxido de cromo.

El Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las dietas, se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$CDA = 100 - \left(100 \cdot \frac{\% \text{ Marcador en alimento} \cdot \% \text{ nutriente en heces}}{\% \text{ Indicador en heces} \cdot \% \text{ nutriente en alimento}} \right)$$

La digestibilidad de los ingredientes se calculó en base a la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Dig. del Ingr.} = \frac{\text{Dig.D.E.} \cdot \text{nut.D.E.} - 0,7 \cdot \text{Dig.D.R.} \cdot \% \text{ nut.D.R.}}{0,3 \cdot \% \text{nut. en la harina de pescado}}$$

D.E=Dieta experimental que tiene cada una de las harinas experimentales.

D.R=Dieta de referencia que no contiene harina de pescado.

• Procesamiento de la dieta por extrusión húmeda y extrusión seca

Para determinar el proceso más adecuado para la elaboración de alimento para el caracol manzana, se realizó un bioensayo en el que se consideró como variable el proceso de: peletizado vs extrusión seca. Estas dietas fueron probadas en dos sistemas de cultivo de acuerdo a las condiciones descritas a continuación.

Dietas experimentales.

Se elaboraron dos dietas experimentales en base a la misma formulación y composición química. Se tomó como base la dieta 2 del primer experimento con relación de 75/25 en porcentaje de proteína animal/proteína vegetal (Tabla II). Se elaboró una Dieta por Peletizado (DP) utilizando un molino de carne, de acuerdo al procedimiento descrito en el primer experimento. Por otra parte se elaboró una Dieta Extruída en Seco (DES) utilizando un extrusor de la marca Insta Pro. En este caso, los ingredientes fueron primeramente molidos, enseguida se mezclaron homogéneamente y posteriormente se pasaron por un extrusor Insta Pro modelo 600 JR, para lo cual se utilizó la siguiente configuración de los anillos de presión: 600- 10 p (31/4”), 600- 08 (35/8”), 600- 05 (33/4”) y 600- 05 (33/4”). El secado se llevó a cabo a temperatura de 40°C durante un día.

Tabla II: Composición (g) de la Dieta 2 para preparar 3000 g de dieta por peletizado (DP) y 10000 g de dieta por extrusión en seco (DES)

Ingrediente	DP	DES
Para preparar	3000 g	10000 g
Harina de Pescado	768,23	2560,78
Harina de lechuga	388,44	1294,83
Harina de Espinaca	300	1000
Harina de Trigo	100,48	334,94
Almidón	750	2500
Celulosa	639,51	2131,71
Mezcla de Vitaminas	30	100
Aceite de Pescado	23,31	77,72

Variables para evaluar las dietas.

El aprovechamiento de las dietas fue evaluado utilizando las mismas variables que en el primer experimento.

• Evaluación del sistema de cultivo

Condiciones del bioensayo.

Las instalaciones para el cultivo fueron diseñadas como se muestra en la Figura 1. Se utilizaron dos estructuras metálicas en las cuales fueron colocadas cuatro canaletas de fibra de vidrio, cada una de las cuales fue dividida en dos secciones. A dos canaletas se les adicionó, por compartimento, dos láminas

corrugadas de 0,24 m x 1,15 m lo cual incrementó el área de desplazamiento para los caracoles, siendo designado este tratamiento como sistema con laminas (SCL). Las dos canaletas restantes fueron designadas como sistema sin laminas (SSL). Las cuatro canaletas, con nivel de llenado de 0,20 m (0,322 m³ de volumen) fueron conectadas a un filtro biológico, el cual contenía piedras volcánicas porosas y carbón activado. De la misma manera que en los bioensayos anteriores, se adicionó una toma de aire para cada canaleta y al filtro biológico, manteniendo niveles adecuados de oxígeno disuelto (>6 ppm) y de temperatura (27°C ± 1) en el agua.

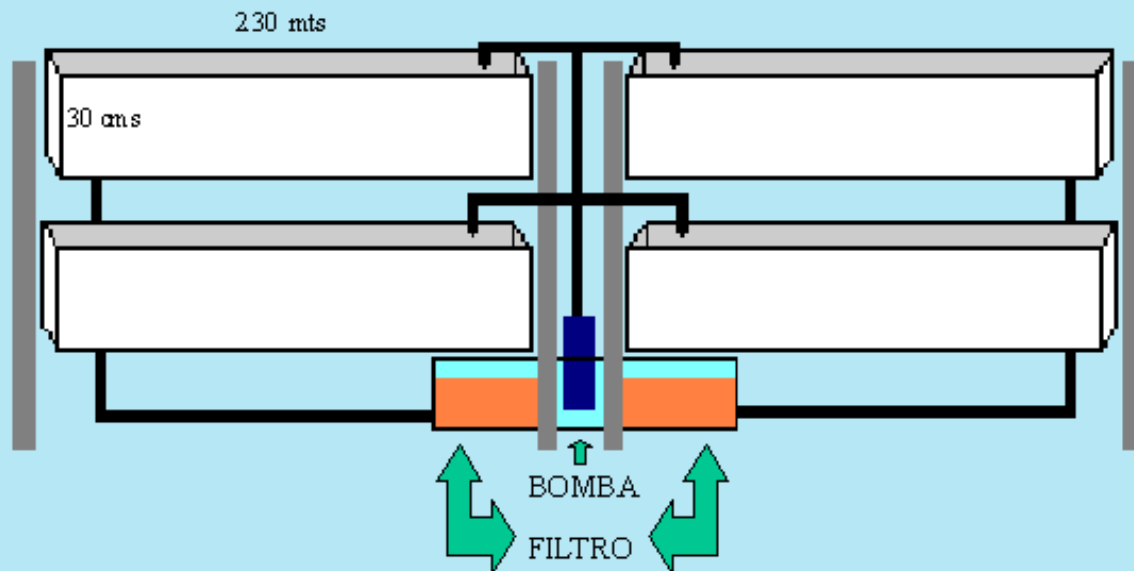


Figura 1: Modelo del sistema de cultivo utilizado

Dietas experimentales.

Como se mencionó en el apartado anterior las dietas utilizadas para probar estos sistemas de cultivo fueron las DP y DES.

Diseño experimental.

Las dietas DP y DES fueron evaluadas en ambos sistemas de cultivo, utilizando dos compartimentos de cada sistema para cada una de las dietas. De este modo se contó con dos repeticiones para la dieta DP con lámina y dos sin lámina y de igual modo para la dieta DES. Se utilizaron un total de 592 caracoles con una longitud inicial media de $19,69 \pm 1,80$ mm, y un peso inicial promedio de $1,77 \pm 0,46$ g. Los caracoles fueron distribuidos aleatoriamente en los ocho compartimentos, de manera que cada compartimento contara con una densidad de 74 caracoles. Las variables a evaluar en este bioensayo fueron las mismas que en el primer experimento.

Análisis de resultados.

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al proceso del alimento (DP vs DES) y al sistema de cultivo (SCL vs SSL) se utilizó una prueba de t de Student con un nivel de significancia de $P= 0,05$.

Resultados

• Proporción de Proteína Animal/Vegetal

Composición de las dietas.

En la Tabla III se presentan los resultados del análisis químico proximal de los principales ingredientes utilizados para formular las dietas con diferentes proporciones de las fuentes de proteína animal y vegetal.

Tabla III: Composición química en porcentaje (%) de los ingredientes en base húmeda para la formulación de dietas para caracol manzana

	Harina de Espinaca	Harina de Lechuga	Harina de Trigo	Harina de Pescado
Humedad	5,11	0,54	16,61	5,46
Ceniza	17,08	12,06	0,66	11,61
Lípidos	3,74	2,05	0,54	4,16
Fibra	12,63	15,29	0,42	0,54
Proteína	29,13	22,59	12,3	73,22
E.L.N.	32,31	47,48	73,46	5,02

Dadas las diferencias en la composición de los principales ingredientes, fue necesario incorporar almidón de maíz (Papigel) en la formulación de las dietas para igualar el contenido de energía, igualmente se adicionó celulosa como elemento de relleno con la finalidad de que las dietas experimentales fueran isocalóricas e isoprotéicas (Tabla IV). La incorporación de estos ingredientes resultó ser proporcional al contenido de proteína de origen animal (harina de pescado).

Tabla IV: Composición de las dietas experimentales para caracol manzana

Ingredientes	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5
Harina Pescado ¹	341,44	256,08	170,74	85,35	0
Harina de Lechuga ¹	0	129,48	170	300	377,32
Harina de Espinaca ¹	0	100	191,8	367,56	561,39
Harina de Trigo ¹	0	33,49	250	102,75	10
Almidón ¹	364,11	250	46,26	40,23	5
Celulosa ¹	273,66	213,17	155,3	93,11	36,29
Mezcla de Vitaminas ¹	10	10	10	10	10
Aceite de Pescado ¹	10,8	7,77	5,89	1	0
% Humedad	7,072	7,542	7,831	9,937	9,414
% Lípidos	2,045	2,018	2,24	1,76	2,659
% Fibra	21,811	18,3	16,571	16,891	15,052
% Proteína	24,267	24,818	24,608	24,797	24,489
% Ceniza	5,253	6,506	8,086	11,07	14,246
% E.L.N.	39,562	40,816	40,664	35,545	34,14
EMC (kcal/100 g) ²	297,98	305,51	305,85	282,00	282,93
P/E (mg prot/Kcal) ³	81,29	81,23	80,45	87,78	86,55

¹ g de ingrediente / 1000 g de dieta

² EMC: Energía metabolizable calculada basada en: proteína 5 Kcal/g, lípidos 9 Kcal/g, carbohidratos 4 Kcal/g (Shiau y Chou, 1991)

³ Relación Proteína/Energía.

Respuesta a la fuente proteica.

La sobrevivencia en todos los tratamientos fue del 100%. Se observaron diferencias significativas en ILC (F=13,76; P=0,0001) y TCE (F=10,62; P=0,0003) entre los caracoles alimentados con las diferentes dietas, siendo estas las principales variables de crecimiento. Aquellos tratamientos a los que se suministró alimento con una relación de proteína animal/proteína vegetal de 25/75, 50/50, 75/25 (dietas 2, 3 y 4) fueron los que presentaron los mayores valores, sin que existieran diferencias significativas entre estas dietas. Igualmente, se presentaron diferencias significativas al considerar la TCA (F=6,18; P=0,0038) y el PER (F=4,70; P=0,016), presentando un comportamiento semejante a las anteriores variables. Sin embargo, en este caso fue posible observar, con diferencias significativas, a la dieta 2 como la dieta con un mejor desempeño. Por otra parte, las dietas formuladas con sólo una de las fuentes proteicas (dietas 1 y 5) ofrecieron un menor desempeño para todas las variables

evaluadas, sin presentar diferencias entre ellas (Figuras 2 y 3).

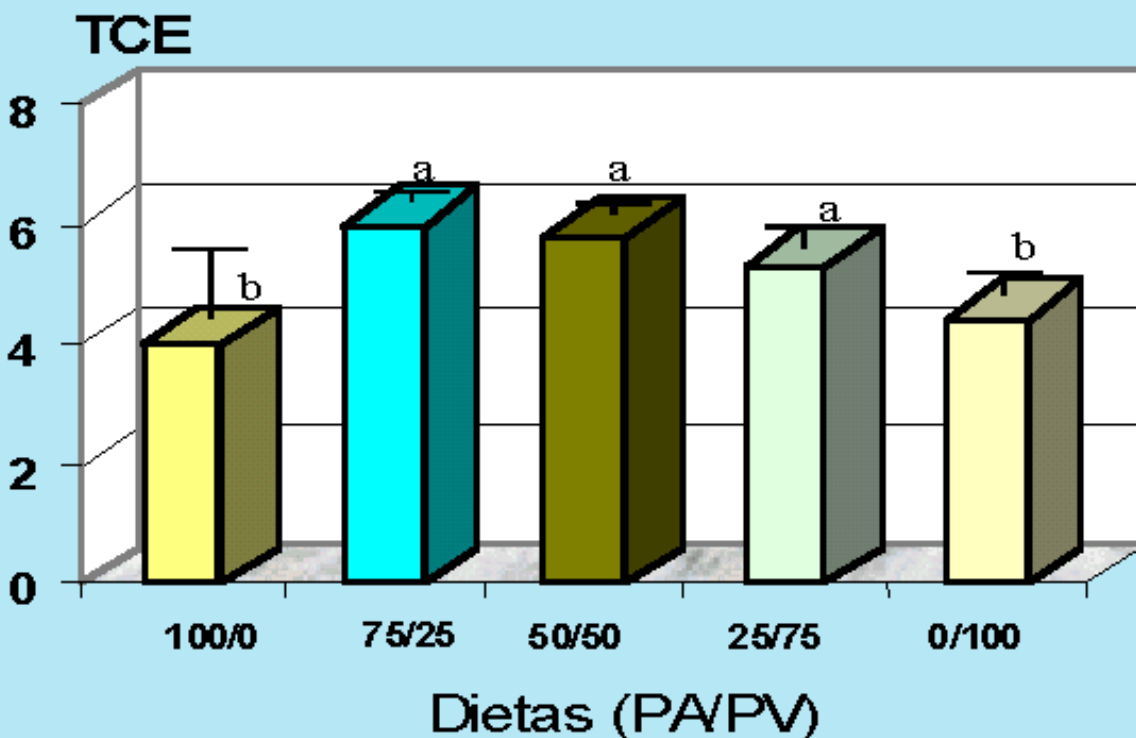


Figura 2: Tasa de crecimiento específico en caracoles alimentados con dietas con diferente proporción de proteína (animal/vegetal)

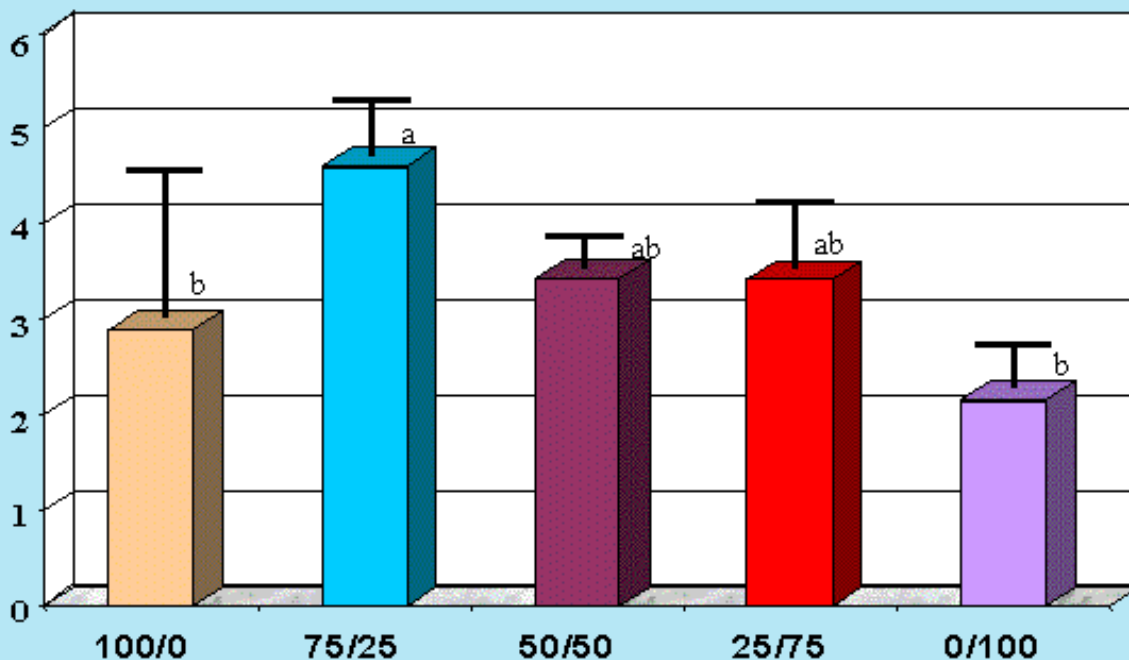


Figura 3: Tasa de Eficiencia proteica (PER) en caracoles alimentados con dietas con diferente proporción de proteína (animal/vegetal)

• Digestibilidad de las dietas

Se observaron diferencias significativas entre las dietas en cuanto a la Digestibilidad Aparente de la Materia Seca (DAMS). (F=6,74; P=0,0067) y la Digestibilidad Aparente de la Proteína (DAP) (F=3,94; P=0,0356). Sin embargo, esta diferencia fue marcada por la dieta con harina de pescado como única fuente de proteína (dieta 1) al ser significativamente menor que el resto de las dietas. Al igual que en el bioensayo de crecimiento se obtuvo el mejor resultado con la dieta 2 y de manera notable se pudo

apreciar un valor relativamente alto para la dieta 5 (Figura 4).

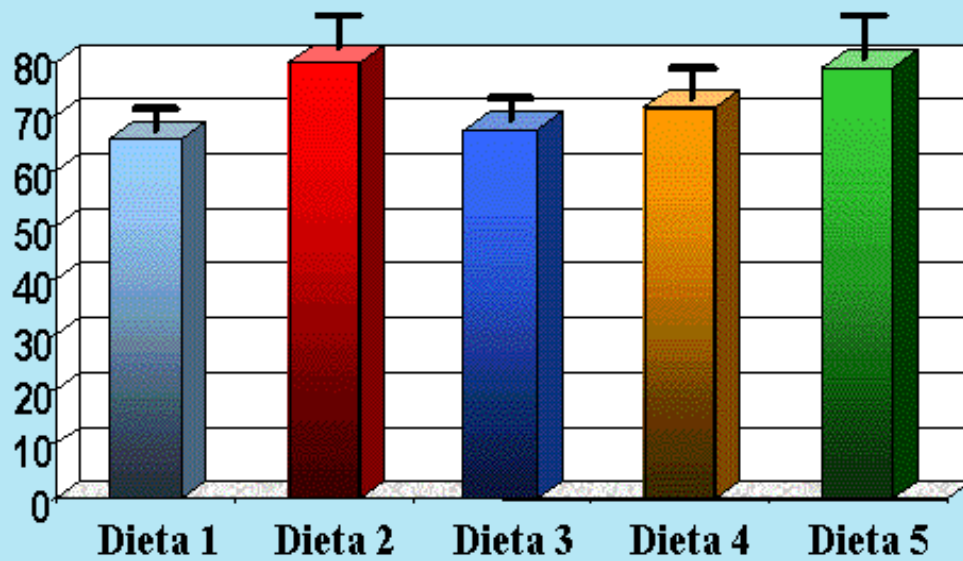


Figura 4: Digestibilidad Aparente de la proteína (DAP) de dietas con diferente proporción de proteína animal/vegetal

De igual forma, se observaron diferencias significativas con respecto a la Digestibilidad de los ingredientes (DI) ($F=10,39$; $P=0,0039$). Sin embargo, esta diferencia es atribuible a la baja digestibilidad de la celulosa. Por otra parte, la harina de pescado y la lechuga presentaron valores muy similares, mientras que la espinaca acuática fue menor a estos, pero sin presentar diferencias significativas (Figura 5). En lo que concierne a la Digestibilidad Aparente de la Proteína de los ingredientes (DAPI) aunque no se registraron diferencias significativas ($F=0,3995$; $P=0,6872$), se observaron valores mayores en el caso de los ingredientes de origen vegetal.

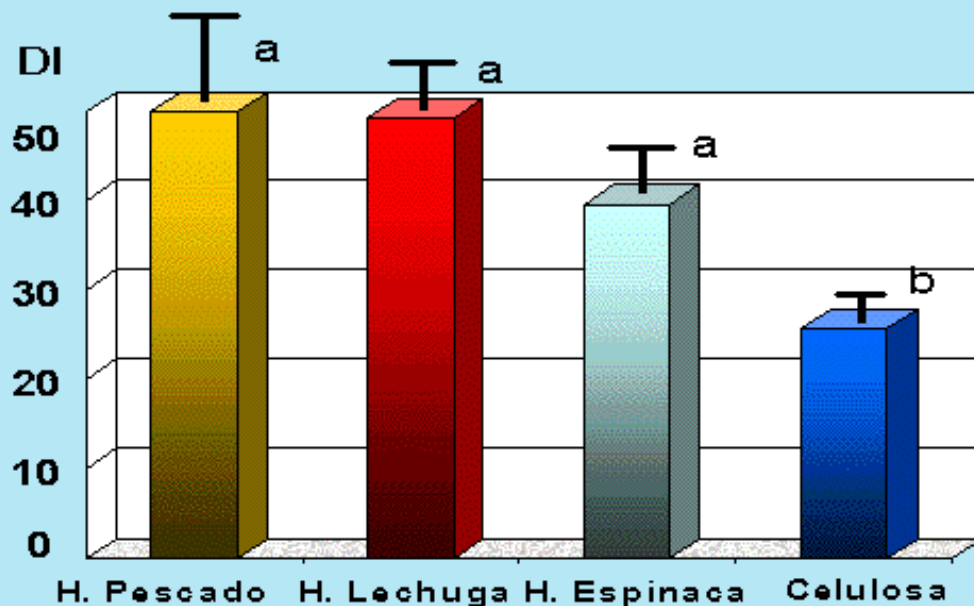


Figura 5: Digestibilidad de los Ingredientes (DI) utilizados en las dietas con diferente proporción de proteína animal/vegetal

• **Procesamiento de la dieta por extrusión húmeda y extrusión seca**

Respuesta al procesamiento de la dieta.

Los caracoles alimentados con las dietas DP y DES no presentaron diferencias significativas para

ninguna de las variables: ILC (F=4,452; P=0,079), TCE (F=1,83; P=0,225), TCA (F=5,533; P=0,057) y PER (F=1.949; P=0,057). No obstante, en todos los casos se observó una ligera tendencia positiva para un mejor aprovechamiento de la dieta DES (Figura 6). De igual forma, los resultados de PPV observados fueron muy similares para los caracoles alimentados con las dietas DP y DES, sin que se observara ninguna tendencia favorable para alguno de los procesos.

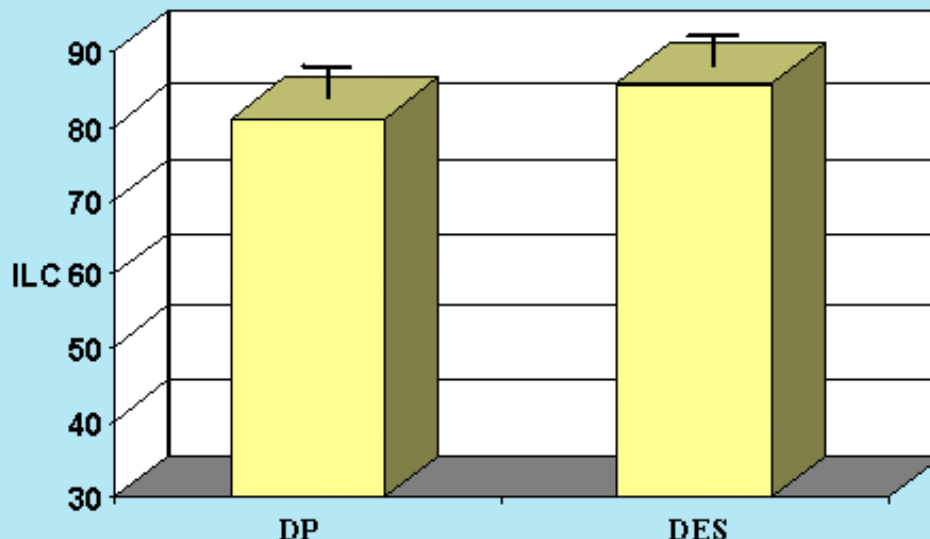


Figura 6: Incremento en longitud de la concha (ILC) en caracoles alimentados con dietas elaboradas mediante peletizado (DP) y extrusión seca (DES)

• **Evaluación del sistema de cultivo**

Los sistemas de cultivo utilizados presentaron diferencias significativas con respecto al ILC (F=7,182; P=0,037) siendo mayor para los caracoles mantenidos en canaletas sin láminas (Figura 7). Sin embargo, esta respuesta no fue apreciada con respecto al resto de las variables: TCE (F=2,216; P=0,187), TCA (F=4.971; P=0,067) y PER (F=1,468; P=0,271). Solo el PPV fue ligeramente mayor para los caracoles mantenidos en canaletas sin láminas (47,66% de PPV) en comparación con los caracoles mantenidos en canaletas con láminas (41,73% de PPV).

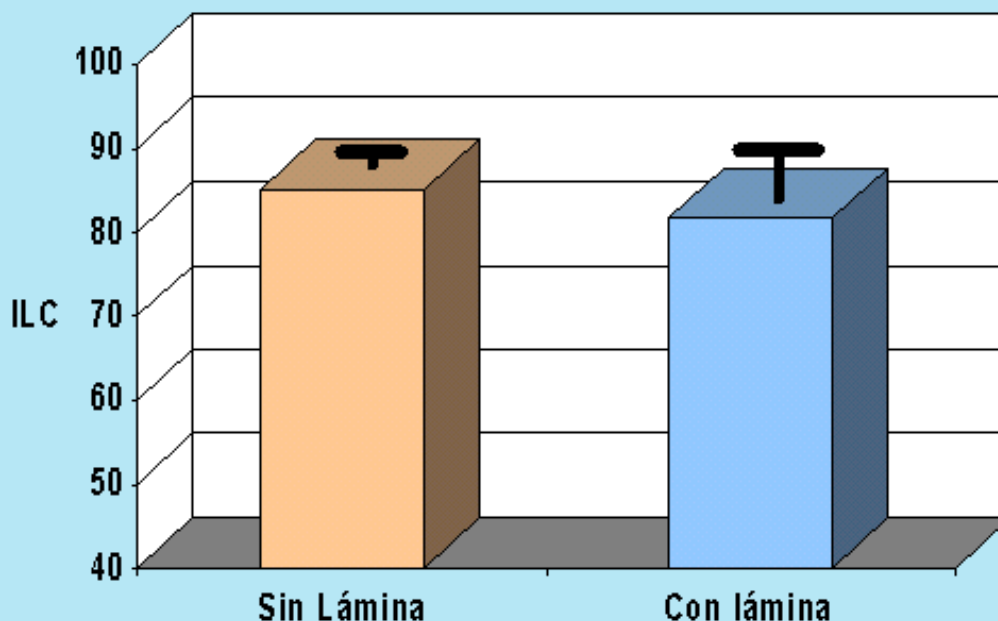


Figura 7: Incremento de longitud de la concha (ILC) en caracoles mantenidos en sistemas con diferente área de desplazamiento, determinada por la presencia de laminas

Discusión

• Proporción de Proteína Animal/Vegetal

El mejor desempeño en crecimiento (IL y TCE) obtenido al utilizar dietas artificiales elaboradas con una combinación de harina de pescado y proteína vegetal (dietas 2, 3, y 4), fueron confirmados por los mejores valores de TCA y PER, destacando en particular la dieta 2. Contrariamente, se apreció un menor desempeño al utilizar exclusivamente fuentes animales o vegetales de proteína (dietas 1 y 5). Estos resultados concuerdan con los reportados para otros gasterópodos (*Lymnaea stagnalis*), los cuales, a pesar de ser considerados como típicamente herbívoros, alcanzaron un mayor crecimiento con una combinación de proteína animal y vegetal (Estebenet y Cazzaniga, 1992). Por otro lado, los reducidos valores de PER para la dieta 5 ponen de manifiesto la menor utilización de la proteína vegetal, lo cual contrasta con los antecedentes sobre hábitos alimenticios del caracol manzana (Cazzaniga, 1981 y 1983; Cazzaniga y Estebenet, 1988; Rangel-Ruiz, 1988; Bever y Borgenes, 1988; Martínez y Farías, 1988; Lum-Kong, 1989; Ontiveros, 1989).

En el otro extremo, el valor de PER de la dieta 1, revela que el suministro único de proteína animal no es suficiente para proporcionar un buen crecimiento en el caracol manzana, de aquí que resulte necesario complementar el aporte de aminoácidos con las fuentes de proteína vegetal, pero sin que éstos se lleguen a presentar en exceso ya que esto podría igualmente repercutir en una reducción del crecimiento como lo muestran los resultados de IL, TCA y PER de las dietas 3 y 4. La necesidad de complementar el perfil de aminoácidos de la dieta resultante, podría explicar igualmente el menor crecimiento registrado con la dieta 5. Resultados similares han sido observados en otros invertebrados como en los camarones *Penaeus schmitti* (Gaxiola *et al.*, 1996), *P. setiferus* y *P. aztecus* (McTigue y Zimmerman, 1991), los cuales al ser alimentados con dietas conteniendo una combinación de proteína animal y vegetal mostraron un mejor crecimiento con respecto a organismos alimentados con dietas conteniendo sólo uno de estos tipos de proteína.

Es interesante notar que a pesar de que varias de las especies del género *Pomacea* son consideradas herbívoras generalizadas, no resulta sorprendente el buen crecimiento alcanzado al ser alimentados con dietas conteniendo altas proporciones de harina de pescado, ya que han sido reportados hábitos carnívoros de caracoles del género *Pomacea* en condiciones de cautiverio (Villega, 1956; Cazzaniga y Estebenet, 1984). Estos resultados ofrecen una mayor comprensión sobre la amplitud trófica de estos animales. A esto cabe añadir que en ciertas ocasiones el consumo de fuentes vegetales puede ser muy limitado, principalmente debido a la baja calidad del material vegetal, a defensas estructurales de las plantas, lo que en ciertas ocasiones provoca la pérdida de los dientes de la rádula, y a sustancias secundarias ocasionalmente presentes en los vegetales, tales como alcaloides y compuestos fenólicos (Estebenet, 1995).

• Digestibilidad de las dietas

La digestibilidad aparente de la materia seca y de la proteína presentaron la misma tendencia que los parámetros de crecimiento, siendo únicamente la dieta 1, la cual contiene sólo proteína animal, la que presentó valores menores. Sin embargo, esta diferencia podría ser atribuida, más que a la calidad de la proteína, a un mayor contenido de celulosa en esta dieta, lo cual pudo originar una mayor velocidad de tránsito intestinal, disminuyendo así el tiempo de contacto del alimento con las enzimas digestivas y reduciendo de esta forma el aprovechamiento de los nutrientes presentes en la dieta. Más aún, los reducidos valores de digestibilidad de la celulosa podrían ser atribuidos a la escasez o baja actividad de celulasas en el caracol manzana. A este respecto, a pesar de haber sido plenamente demostrada la existencia, en los gasterópodos, de enzimas con la capacidad de hidrolizar la celulosa (Anzai *et al.*, 1991; Flari y Chaurrier, 1992); se ha sugerido que el equipo de enzimas está en relación con la naturaleza del alimento que ingieren de manera cotidiana las diferentes especies (Koopmans, 1970). En concordancia con los resultados obtenidos en este estudio, se ha observado que a medida que se

aumentaba el nivel de celulosa en las dietas para abulón el crecimiento decrecía progresivamente, lo cual se podría explicar en función del límite digestivo de este ingrediente (Uki *et al.*, 1985). En efecto, existen evidencias de que otros gasterópodos, como *Helix aspersa*, son capaces de asimilar celulosa agregada en el alimento, pero solo hasta cierta cantidad (Fenolla y Sanz, 1984). Si consideramos esta premisa se podría inferir que en el caso de la dieta 1 se rebasó la capacidad digestiva de los organismos.

En contraste con lo anterior, la dieta 5 mostró una digestibilidad excepcionalmente elevada al igual que el resto de las dietas conteniendo fuentes vegetales, lo que podría explicarse por el mayor contenido de aminoácidos libres presentes en estas fuentes (Meenakshi *et al.*, 1975). Esto contribuiría igualmente a explicar que a pesar de no haberse registrado diferencias significativas con respecto a la digestibilidad proteica de los ingredientes, ésta haya resultado ligeramente mayor para las fuentes proteicas de origen vegetal.

No se registraron diferencias significativas en cuanto a la digestibilidad de los ingredientes: harina de pescado, lechuga y espinaca acuática, aunque resultó ligeramente inferior en esta última, lo cual podría estar relacionado con la mayor cantidad de ceniza presente en éste ingrediente (Hajen *et al.*, 1993).

● **Procesamiento de la dieta por extrusión húmeda y extrusión seca**

Los resultados obtenidos no revelaron diferencias significativas entre los organismos a los cuales se les suministró alimento extruído húmedo o extruído en seco. Sin embargo, se observó una ligera tendencia a ser mejor aprovechado este último, como lo revelan los mayores valores en IL y TCE. En el mismo sentido, el mejor aprovechamiento en la dieta DES se explicaría por el menor valor de TCA, y por el mayor PER, lo cual podría estar relacionado con el proceso de gelatinización que sufre el almidón durante el proceso de extrusión en seco, confiriéndole un aumento en la digestibilidad (Jong-Kiang, 1990).

En la alimentación de organismos acuáticos, la alta proporción de pequeñas partículas que se forman como consecuencia del manejo (finos) y la baja estabilidad de los pellets en el agua de las dietas elaboradas por peletizado son algunas de las principales desventajas atribuidas a estas dietas. Por una parte, el tamaño de los finos impide su ingestión, a menos que el organismo tenga un sistema de alimentación especializado para la filtración (e.g. almejas), mientras que la estabilidad de los pellets limita el tiempo en el cual la partícula pueda ser ingerida antes de que pierda su consistencia. De esta forma, en el cultivo de la mayoría de los organismos acuáticos se prefieren las dietas elaboradas por extrusión seca. Sin embargo, en el caso del caracol manzana estas desventajas no se reflejaron en forma significativa en el crecimiento, lo cual puede ser explicado por la forma en que se alimentan (Andrews, 1965; Cazzaniga y Estebenet, 1984; Aguilera, 1996). En primer termino, el caracol manzana presenta una rádula con la cual puede raspar o separar trozos de alimento los cuales son succionados de inmediato gracias a su estructura bucal, independientemente de la constitución del alimento, lo cual es facilitado por el reblandecimiento de los pellets al estar en el agua. Por otra parte, en el caso de existir partículas finas de alimento, el caracol manzana tiene la capacidad de crear una corriente ciliar en la superficie del agua y aglutinar las partículas suspendidas mediante un mucus, para posteriormente ingerirlas. Al mismo tiempo, la estructura del esófago le permite ingerir grandes cantidades de alimento en cortos periodos, funcionando a manera de buche, lo que facilita la ingestión de los pellets antes de que existan grandes pérdidas por lixiviación.

● **Evaluación del sistema de cultivo**

La única variable entre los dos sistemas de cultivo consistió en la superficie de desplazamiento para los caracoles, la cual estuvo dada por la incorporación, en uno de los sistemas, de láminas corrugadas dentro de las canaletas de cultivo. Esta variable fue incluida suponiendo que la superficie para desplazarse y alimentarse podría ser limitante para el crecimiento. Sin embargo, al no presentarse diferencias significativas en el crecimiento, inicialmente podemos considerar que la densidad de siembra utilizada no haya rebasado el límite de hacinamiento tolerado por el caracol manzana,

particularmente en el sistema sin láminas. De esta forma, para llegar a tener efectos sobre el crecimiento y marcar una diferencia entre estos sistemas, se requeriría incrementar la cantidad de organismos por canaleta. A este respecto, es conocido que el hacinamiento en el caracol manzana conlleva a efectos detrimentales importantes sobre el crecimiento, debido a la existencia de sustancias orgánicas rápidamente oxidables que provocan una inhibición del crecimiento y a la disminución consecuente de los niveles de oxígeno (Cazzaniga y Estebenet, 1988). Sin embargo, es necesario realizar más ensayos que nos permitan conocer los niveles de hacinamiento tolerados por esta especie. Por otra parte, se observaron rendimientos ligeramente mayores en el sistema de cultivo sin láminas, lo cual podría deberse a que en el sistema con láminas, los caracoles tuvieron que desplazarse continuamente para llegar a los sitios donde se depositaba el alimento, lo cual tendría como consecuencia cierto gasto energético y consecuentemente una repercusión sobre el crecimiento.

Los sistemas de cultivo empleados en el presente trabajo ofrecen diversas ventajas con respecto a los reportados en la literatura. Así, es posible romper los posibles ciclos de transmisión de enfermedades y parásitos (intermediarios de tremátodos) a menudo relacionadas con el consumo de organismos silvestres (Asian y Olguín, 1995; Aguilera, 1996). Por otra parte, no se registraron problemas de orden bacteriológico en los organismos, ni deterioro de las condiciones del agua a causa de larvas de quironómidos, los cuales han sido frecuentes en el caso de cultivos extensivos (Martínez y Farías, 1988). Igualmente, la sobrevivencia del 100 % en los tratamientos y la homogeneidad de tallas en los organismos son características que no se habían podido obtener en sistemas de cultivo extensivo (Martínez y Farías, 1988). Finalmente, al utilizar un sistema cerrado, es posible evitar fugas de organismos y la consecuente invasión de áreas destinadas a otros fines (e.g. cultivos de arroz) (Bombeo-Turban et al., 1995).

Es pertinente notar que los resultados de crecimiento obtenidos en el presente estudio (16,1 mm/mes en el caso del sistema con lámina y 16,7 mm/mes en el caso del sistema sin lámina) son superiores a los máximos reportados en otros sistemas de cultivo (5,3 mm/mes) (Ontiveros, 1989; Asian y Olguín, 1995), en la naturaleza (13,52 mm/mes) (Lum-Kong, 1989), e incluso a los obtenidos en el estudio precedente (14,1 mm/mes) (Mendoza et al., 1999).

A partir de los resultados de esta investigación se puede señalar que quedan resueltas algunas de las limitantes o cuellos de botella señaladas para el cultivo de esta especie, como son los requerimientos físicos y nutricionales del alimento, así como las condiciones del sistema de cultivo adecuado a las características particulares de estos organismos (Martínez y Farías, 1988; Lum-Kong, y Kenny, 1989).

Bibliografía

- **A.O.A.C.** (1990) *Official Methods of Analysis*. 12th. Ed. Association of Official Analytical Chemist. Elliam Horritz Ed. Washington, D.C., U.S.A.
- **Aguilera, Carlos** (1996) *Determinación del perfil de proteasas y de los requerimientos proteicos del Caracol Manzano (*Pomacea* sp.) como base para el desarrollo de una dieta artificial para su cultivo comercial*. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 89 pp.
- **Andrews, E.B.** (1965) The functional anatomy of the gut of the prosobranch gastropod *Pomacea canaliculata* and of some other pilids. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 145:19-36.
- **Anzai H., H. Asada, A. Koshiha, S. Yoshida, H. Kobayashi, N. Uchida y E. Nishide** (1991) Distribution of Polysaccharide Digestive Enzymes in a Marine Gasteropod *Dolabella auricularia*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57 (11), 2077-2081.
- **Asian y Olguín** (1995) Evaluation of water spinach (*Ipomoea aquatica*) as feed for apple snail (*Pomacea patula*). *World Aquaculture* 95, *Book of Abstracts*. pp 51 -52.
- **Banarescu, P.** (1990) *Zoogeography of freshwater, Vol.1 General distribution and dispersal of fresh water animals*. Editorial Aula - Verlag GmbH, Wiesbaden, Bucarest-Rumania. pp.1-511.
- **Bever, M. y R. Borgenes** (1988) Electrical responses to amputation of eye in the mystery snail. *The Journal of Experimental Zoology*, 245:43-52.
- **Bombeo-Turban, I., S. Fukumoto y E.M. Rodríguez** (1995) Use of the apple snail, cassava, and maize as feeds for the tiger shrimp, *Penaeus monodon*, in ponds. *Aquaculture* 131:91-100.
- **Burky, A.J.** (1972) Organic content of eggs and juveniles of an amphibious snail, *Pomacea urceus* (Müller), from the Venezuelan

- Savannah and their ecological significance. *Mollusk Seminar, Ann Arbor, Cleveland, Ohio, U.S.A* pp. 59.
- **Burky, A.J.** (1974) Growth and Biomass production an amphibious snail, *Pomacea urceus* (Müller) From the Venezuelan Savannah. *Proceeding Malacological Society London* 41: 127-143.
 - **Cazzaniga N J.** (1983) Apple-Snails Eating Chara. *Aquaphyte*, 3, (2): 1-4.
 - **Cazzaniga N.J. y Estebenet A.L.** (1984) Revisión y notas sobre los hábitos alimentarios de los *Ampullaridae* (Gasteropoda) (1). *Historia Natural*, 4 (22): 213-224.
 - **Cazzaniga, N.J. y A.L. Estebenet** (1988) Effects of crowding on breeding *Pomacea canaliculata* (Gasteropoda : *Ampullaridae*). *Comp. Physiol. Ecol.*, 13, (3): 89-96.
 - **Cazzaniga, N.J.** (1990) Predation of *Pomacea canaliculata* (*Ampullaridae*) on adult *Biomphalaria peregrina* (*Planorbidae*). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 84, (1): 97-100.
 - **Cazzaniga, N.J.** (1981) Evaluación preliminar de un gasterópodo para el control de malezas acuáticas sumergidas. *II Reunión sobre Malezas Subacuáticas en canales de desagüe de CORFO*, Argentina. pp. 131- 163.
 - **Cho, C.Y.** (1987) La energía de los nutrientes en los peces, In: *Nutrición en Acuicultura*, Vol. II. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (eds), Ed. CAICYT, España. pp 197-237.
 - **Estebenet A. L. y Cazzaniga N.J.** (1992) Growth and Demography of *Pomacea caniculata* (Gastropoda : *Ampullaridae*) under laboratory conditions. *Malacological Review*, 25:1-12.
 - **Estebenet A.L.** (1995) Food and feeding in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: *Ampullariidae*) *The Veliger* 38(4): 277-283.
 - **Fenolla y Sanz** (1984) Etude de la capacité cellulolytique de l'escargot *Helix aspersa* nourri avec des rations semisynthétiques. *Ann. Zootech.*, 33:99-110.
 - **Flari, V. y M. Chaurrier** (1992) Contribution to the study of carbohydrases in the digestive tract of the edible snail *Helix lucorum* L. (Gastropoda : *Pulmonata* : *Stylommatophora*) in relation to its age and its physiological state. *Comp. Biochem. Physiol.* 102A, (2): 363-372.
 - **Gaxiola, G., García T., B. Jaime y González R.** (1996) Evaluación de diferentes razones de proteína animal/vegetal en dietas para postlarvas de camarón blanco *Penaeus schmitti* (Burkenroad, 1936). *Rev. Invest. Mar.* 17 (1): 73-84.
 - **Hajen W., R. Beames, D. Higgs y B. Dosanjh** (1993) Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. 2. Measurement of digestibility. *Aquaculture*, 112: 333-348.
 - **Koopmans, J.J.C.** (1970). Cellulases in Mollusca. 1 The nature of the cellulases in *Helix pomatia* and *Cardium edule*. *Neth. J. Zool.* 20, 445-463.
 - **Lum-Kong, A. y J.S. Kenny** (1989) The reproductive biology of the ampullarid snail *Pomacea urceus* (Müller). *Journal of Molluscan Studies*. 55, : 53-65.
 - **Lum-Kong, A.** (1989) The Potential of *Pomacea urceus* as a culture species in Trinidad. In BCPC. Monography. *Slugs and Snails in World Agriculture*. 41, 33-39.
 - **Martínez y Farías** (1988) Contribución a la ecología y cultivo del caracol de agua dulce *Pomacea patula* (Mesogastropoda: *Ampullaridae*). *X Congreso Nacional de Zoología*. México, D. F., 25-28 Octubre, pp 25-28.
 - **McTigue, T. M. y R. J. Zimmerman** (1991) Carnivory vs. herbivory in juvenile *Penaeus setiferus* (Linnaeus) and *Penaeus aztecus* (Ives). *J Exp. Mar. Biol. Ecol.* 151: 1-16.
 - **Meenakshi, V.R., P.L. Blackwelder, P.E. Hare, M.K Wilbur y N. Watabe** (1975) Studies on Shell Regeneration I. Matrix and Mineral Composition of the Normal and Regenerated Shell of *Pomacea paludosa*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 50: 347-351.
 - **Mendoza, R., C. Aguilera, J. Montemayor y G. Rodríguez** (1999) Utilization of artificial diets and effect of protein/energy relationship on growth performance of the apple snail *Pomacea bridgesi* (Prosobranchia: *Ampullariidae*). *The Veliger*, 42(1):109-119.
 - **Jong Kiang, M.** (1990) Extrusión como herramienta para mejorar el valor nutritivo de los alimentos. *Memorias del Seminario Extrusión en Alimentos Balanceados*. Asociación Americana de Soya. Guadalajara, Jal. 6 de diciembre México. pp. 33 - 48.
 - **Nieto, L., E. Cruz y D. Rique.** (1997) Implementación de un método para la determinación de óxido de cromo y proteína en micromuestras de alimento y heces de camarón. *Memorias de la VI Reunión Internacional de Nutrición Animal*, 22-24.
 - **Ontiveros-López G.** (1989) *Producción semi-intensiva de crías de Pomacea sp. (Caracol Dulceacuícola) en estanques de concreto, como apoyo a los programas de recuperación de los sistemas palustres del Municipio de Veracruz*. Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico del Mar, Boca de Río, Veracruz, México pp. 54-59.
 - **Rangel-Ruiz, L. J.** (1988) Estudio morfológico de *Pomacea flagelata* Say, 1827 (Gastropoda: *Ampullaridae*) y algunas consideraciones sobre su taxonomía y distribución geográfica en México. *Anales del Instituto de Biología UNAM, Serie Zoológica*. 58:21-34.
 - **Shiau, S y B. Chou** (1991) Effects of dietary protein and energy on growth performance of tiger shrimp *Penaeus monodon* reared in seawater. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 57(2):2271-2276.
 - **Uki., N., Kemuyama y Watanabe, T.** (1985) Development of semipurified test diets for abalone. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 51:1825-1833.
 - **Villela, G.G.** (1956) Carotenoids of some Brazilian freshwater gastropods of the genus *Pomacea*. *Nature*, 178:93.

Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16
Aquatic 16

Este documento ha sido accedido

00595

veces



Artículo publicado en la Revista AquaTIC nº 16, abril 2002