



Adición de OptiLisina® a la dieta de juveniles del ajolote *Ambystoma velasci* para su crecimiento y supervivencia

Ana K. López De la Rosa , Gabriela Vázquez Silva¹ , Luis H. Hernández-Hernández³ ,
José F. Aguirre Garrido⁴ , Jesús I. Morales Jiménez² , Pablo B. Razo Ortíz⁵ ,
Sandra Morales Sánchez² , y Guido S. Rayo Leyva² 

Laboratorio de Limnobiología y Acuicultura. Departamento El Hombre y su Ambiente,
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México.

Addition of OptiLisina® to the diet of juveniles of the axolotl *Ambystoma velasci* for their growth and survival

Abstract. The axolotl *Ambystoma velasci* is an endemic amphibian of Mexico whose wild populations have decreased due to different environmental and anthropogenic pressures, which is why it is listed in NOM-059-SEMARNAT-2010 as a species subject to special protection. An important aspect for their well-being, development and adaptation in captivity is to offer a varied diet that provides the necessary nutrients for their development; however, there are no studies on the nutritional requirements of this genus of salamanders. In captivity, one of the favorite foods of this amphibian is the mudworm *Tubifex* spp. but not always the live food covers the nutritional requirements, therefore, strategies are sought to improve the quality of the food, one of them is its enrichment, incorporating supplements, such is the case of the OptiLisina® formula which is a herbal supplement that is characterized by being a source of lysine, which added to the diet has a positive influence as a growth promoter. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the parameters of growth, food consumption and survival with the addition of OptiLysine® to the diet of juvenile *A. velasci* under captive conditions. The experimental design consisted of a completely randomized design distributing 120 individuals of 110 days of age in three treatments of OptiLysine® (0, 0.5 and 1.0 g/kg) added to *Tubifex* spp. with four replicates each. Growth in weight and length were recorded to calculate the productive parameters. An analysis of the linear and quadratic effects of the diet by orthogonal polynomials ($P < 0.05$) was performed in the SAS® Institute version 7 software. The results of the diet did not show linear or quadratic effects on the productive parameters ($P < 0.05$); however, there is a tendency in weight increase in the salamanders treated with 1 g/kg OptiLysine® diet. Water quality was not affected and remained in accordance with that reported for the species. Further studies on the nutritional requirements of this amphibian are needed in order to develop better feeding strategies for the species and to favor its maintenance in captivity.

Keywords: feeding, amino acid, amphibian, food consumption, food enrichment, *Tubifex* spp.

Resumen. El ajolote *Ambystoma velasci* es un anfibio endémico de México, debido a diferentes presiones ambientales y antropogénicas las poblaciones silvestres han disminuido, por lo cual se encuentra enlistado en la NOM-059-SEMARNAT-2010 como especie sujeta a protección especial. Un aspecto importante para su bienestar, desarrollo y adaptación en cautiverio es ofrecer una dieta variada que brinde los nutrientes necesarios para su desarrollo; sin embargo, no existen estudios acerca de los requerimientos nutricionales en este género de salamandras. En cautiverio

¹Autor de correspondencia: gavaz@correo.xoc.uam.mx

²Laboratorio de Limnobiología y Acuicultura. Departamento El Hombre y su Ambiente, UAM-Xochimilco.

³Laboratorio de Producción Acuícola, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM.

⁴Laboratorio de Biotecnología Ambiental. Departamento de Ciencias ambientales. UAM-Lerma

⁵Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Departamento de Producción Agrícola y Animal

uno de los alimentos de predilección de este anfibio es el gusano de fango *Tubifex* spp., pero no siempre el alimento vivo cubre los requerimientos nutricionales, por ende, se buscan estrategias para mejorar la calidad del alimento, una de ellas es su enriquecimiento, incorporando suplementos, tal es el caso de la fórmula OptiLisina® que es un complemento herbal que se caracteriza por ser fuente de lisina, que adicionado a la dieta influye positivamente como promotor de crecimiento. Por lo que, el objetivo del presente estudio fue evaluar los parámetros de crecimiento, consumo de alimento y supervivencia con la adición de OptiLisina® a la dieta de juveniles de *A. velasci* en condiciones de cautiverio. El diseño experimental en un ensayo con 120 individuos de 110 días de edad distribuidos en tres niveles de OptiLisina® (0, 0,5 y 1,0 g/kg) adicionado al *Tubifex* spp., con cuatro repeticiones cada uno. Se registró el crecimiento en peso y talla para calcular los parámetros productivos y ser analizados en un Diseño Completamente al Azar empleando polinomios lineales y cuadráticos ortogonales para evaluar el efecto del complemento herbal ($P < 0.05$) en el Software, R. Los resultados de la dieta no mostraron efectos lineales ni cuadráticos en los parámetros productivos ($P > 0,05$); sin embargo, se observa una tendencia en el aumento de peso en los ajolotes tratados con 1g/kg de OptiLisina®. La calidad del agua no se vio afectada y se mantuvo de acuerdo con lo reportado para la especie. Se necesitan realizar más estudios sobre los requerimientos nutricionales de este anfibio, para así realizar mejores estrategias de alimentación para la especie y favorecer su mantenimiento en cautiverio.

Palabras clave: alimentación, aminoácido, anfibio, consumo alimenticio, enriquecimiento de alimentos, *Tubifex* spp.

Adição de OptiLisina® à dieta de juvenis do axolote *Ambystoma velasci* para o seu crescimento e sobrevivência.

Resumo. O axolote *Ambystoma velasci* é um anfibio endêmico do México, devido a diferentes pressões ambientais e antrópicas as populações selvagens diminuíram, pelo que está listado no NOM-059-SEMARNAT-2010 como uma espécie sujeita a proteção especial. Um aspecto importante para seu bem-estar, desenvolvimento e adaptação em cativeiro é oferecer uma dieta variada que forneça os nutrientes necessários para seu desenvolvimento; entretanto, não existem estudos sobre as exigências nutricionais desse gênero de salamandras. Em cativeiro, um dos alimentos preferidos deste anfibio é a minhoca *Tubifex* spp., porém a alimentação viva nem sempre cobre as exigências nutricionais, por isso, buscam-se estratégias para melhorar a qualidade da alimentação, uma delas é o seu enriquecimento. , incorporando suplementos, como é o caso da fórmula OptiLisina®, que é um suplemento fitoterápico caracterizado por ser fonte de lisina, que quando adicionado à dieta tem influência positiva como promotor de crescimento. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros de crescimento, consumo alimentar e sobrevivência com a adição de OptiLisina® à dieta de juvenis de *A. velasci* mantidos em cativeiro. O delineamento experimental em teste com 120 indivíduos de 110 dias de idade distribuídos em três níveis de OptiLisina® (0, 0,5 e 1,0 g/kg) adicionado ao *Tubifex* spp., com quatro repetições cada. O crescimento em peso e altura foi registrado para calcular os parâmetros produtivos e para ser analisado em um Projeto Completamente Aleatório usando polinômios ortogonais lineares e quadráticos para avaliar o efeito do suplemento de ervas ($P < 0,05$) no Software, R. Os resultados de a dieta não apresentou efeitos lineares ou quadráticos nos parâmetros produtivos ($P > 0,05$); no entanto, observa-se tendência de ganho de peso em axolotes tratados com 1g/kg de OptiLisina®. A qualidade da água não foi afetada e manteve-se de acordo com o relatado para a espécie. Mais estudos são necessários sobre as exigências nutricionais deste anfibio, a fim de realizar melhores estratégias alimentares para a espécie e favorecer sua manutenção em cativeiro.

Palavras-chave: alimentação, aminoácidos, anfíbios, consumo alimentar, enriquecimento alimentar, *Tubifex* spp.

Introducción

En México existe una gran diversidad de anfibios caudados con gran importancia biológica, los cuales se encuentran en alguna categoría de riesgo a nivel nacional (Parra-Olea *et al.*, 2014). En particular, el ajolote del Altiplano *Ambystoma velasci* es una especie endémica de México, cuyas poblaciones en vida silvestre han disminuido debido al crecimiento de la mancha urbana, contaminación biológica y química del agua, aunado al excesivo aprovechamiento culinario en platillos tradicionales y medicinal para el tratamiento de enferme-

dades respiratorias (Rodríguez-Amador *et al.*, 2013). Esta salamandra se encuentra en la NOM-059-SEMARNAT-2010 como especie sujeta a protección especial (SEMARNAT,2010); mientras que, a nivel internacional está enlistada como especie de menor preocupación (IUCN, 2021). Por lo que la investigación sobre la alimentación de este anfibio es importante para mejorar su conservación en cautiverio, ya que, no existen estudios acerca de los requerimientos nutricionales en este género de salamandras que es un aspecto importante para su



bienestar, desarrollo y adaptación en cautiverio, ya que tener una nutrición deficiente son susceptibles a enfermedades (Ferrie *et al.*, 2014). El ajolote *A. velasci* es considerado un caudado carnívoro estricto por lo que uno de los alimentos de predilección son las presas vivas como el gusano de fango *Tubifex* spp., el cual presenta características que no tiene el alimento balanceado como lo es el movimiento, color y olor que estimula y facilita que sea capturado por el depredador (Chaparro-Herrera *et al.*, 2013; Luna-Figueroa *et al.*, 2018). Por ende, se han utilizado estrategias para mejorar la dieta de esta especie en confinamiento, siendo una de ellas, el enriquecimiento de presas vivas en diferentes especies impactando positivamente la tasa de crecimiento y la salud de los organismos (Watanabe *et al.*, 2021). Los suplementos de origen herbal son una mezcla de una o más plantas medicinales completas o partes de ellas como hojas y tallos (Parasuraman *et al.*, 2014) que adicionados a la dieta mejoran el crecimiento, comportamiento productivo y sistema inmune (Paolella, 2020), tal es el caso de la fórmula OptiLisina® el cual es una mezcla de plantas

como fuente de lisina que se ha incorporado en la dieta, tenido resultados positivos en el crecimiento y mejorando el sistema inmune (Lorenzana *et al.*, 2020). La incorporación de fuentes de lisina en la dieta es importante ya que, en la mayoría de las especies, los aminoácidos limitantes son la lisina y la metionina que desempeñan un papel importante en el metabolismo celular y son esenciales para la asimilación lipídica y de carbohidratos, así como una fuente metabólica de energía (Ferrie *et al.*, 2014). Debido a lo anterior es importante realizar estudios sobre efecto del enriquecimiento del alimento *Tubifex* spp. con diferentes dosis de la mezcla herbal OptiLisina® en la dieta basal del *A. velasci*, y así evaluar el crecimiento en peso y talla, la ganancia diaria de peso, tasa específica de crecimiento, factor de conversión alimenticia, el consumo de alimento y supervivencia. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar los parámetros de crecimiento, consumo de alimento y supervivencia con la adición de OptiLisina® a la dieta de juveniles de *A. velasci* en condiciones de cautiverio.

Materiales y Métodos

El experimento fue realizado en el Laboratorio de Limnobiología y Acuicultura de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, siguiendo las pautas establecidas del Comité Académico de Bioética de la Universidad Autónoma Metropolitana, México. La duración del ensayo tuvo una duración de 60 días empleando 120 juveniles de *Ambystoma velasci* de 110 días de edad, sin tomar en cuenta el sexo como variable ya que, en esta etapa de su ciclo biológico los caracteres sexuales no aún no son visibles, así mismo los organismos se seleccionaron de un mismo desove con pesos y tallas similares, con un peso inicial de $4,12 \text{ g} \pm 0,30$ y una talla de $7,53 \text{ cm} \pm 0,23$. El diseño experimental consistió en tres tratamientos de OptiLisina® (0, 0,5 y 1,0 g/kg) con cuatro repeticiones cada uno. La mezcla herbal de lisina se adicionó al *Tubifex* spp. para enriquecerlo (Nuproxa México- Nuproxa Suiza, Indian Herbs®). Este complemento contiene mezclas herbales certificadas, concentraciones de lisina estandarizadas (Normas ISO 9001; GMP, Good Manufacturing Practices) y es utilizado como complemento alimenticio de diferentes especies de animales (Lorenzana *et al.*, 2020) (Tabla 1).

Los organismos fueron distribuidos en 12 Unidades Experimentales (UE) en tinas de 60 L, con 10 individuos cada una, acondicionados con agua libre de cloro, aireación constante, temperatura del agua de $19 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ y fotoperiodo de 12 h de luz: 12 h de oscuridad. Los individuos fueron alimentados con *Tubifex* spp. enriquecido con la mezcla herbal OptiLisina® diariamente

Tabla 1. Composición química OptiLisina®. Datos obtenidos de Lorenzana *et al.*, (2020).

Composición	OptiLisina® (%)
Materia seca	96.0
Materia orgánica	92.6
Proteína cruda	8.2
Ceniza	7.84
Fibra detergente neutro	52.6
Fibra detergente ácido	33.1
Extracto etéreo	6.7
Calcio	1.44
Fósforo	0.44
Metionina (g 100g-1 proteína)	1.74
Lisina (g 100g-1 proteína)	11.19

en una ración del 10% de la biomasa por UE, quincenalmente esta se ajustó después de determinar el peso de los individuos. El alimento vivo *Tubifex* spp. recién cultivado fue adquirido en la granja “S.C.P. Gusano de Fango-Pesca S.C.L.” en el Estado de Hidalgo, y se trasladó al laboratorio para realizar el análisis químico proximal y conocer su composición (Tabla 2). El *Tubifex* spp. fue lavado con agua corriente diariamente antes del proceso de enriquecimiento, posteriormente se pesó y fue colocado en recipientes de plástico de 100 ml, junto con las dosis de OptiLisina® y 25 ml de agua, se homogenizaron suavemente con agitadores magnéticos y se dejó impregnando durante 15 minutos antes de alimentar a los anfibios (Vázquez-Silva *et al.*, 2019).

Tabla 2. Análisis químico proximal del gusano de fango *Tubifex* spp.

Contenido	% por peso
Proteína	8,98
Fibra cruda	0,53
Ceniza	0,70
Humedad	84,72
Extracto etéreo	2,16

Diariamente se retiró el alimento no consumido y se pesó para determinar el rechazo y se reemplazó el 50% del agua de las UE con ayuda de un sifón para mantener la calidad del agua. El registro del peso de cada individuo fue cada quince días con una balanza digital OHAUS®, mientras que la talla fue tomada de manera mensual con un

ictiómetro (cm) considerando Longitud total y Longitud Hocico-Cloaca. Con los datos de crecimiento se determinó la Ganancia Diaria de Peso (GDP), Tasa Específica de Crecimiento (TEC), Factor de Conversión Alimenticia (FCA) y Consumo Alimenticio (CA), asimismo se registró el porcentaje de supervivencia (%). Por último, los resultados se analizaron en un Diseño Completamente al Azar empleando polinomios lineales y cuadráticos ortogonales para evaluar el efecto del complemento herbal ($P < 0.05$), en el Software, R (Mirman, 2014). Los parámetros fisicoquímicos del agua fueron registrados cada quince días: pH (Potenciómetro, Hanna Instrument, HI98103), nitritos, nitratos y amonio (Fotómetro Multiparamétrico; Hanna Instrument, HI 83303) y temperatura con un termómetro de mercurio (Brannan).

Resultados y Discusión

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la dieta con la adición de OptiLisina® al alimento vivo *Tubifex* spp. observando que no hay efecto lineal ni cuadrático ($P > 0,05$) en los parámetros productivos del ajolote *Ambystoma velasci*. Sin embargo, se observó una ligera tendencia en el aumento de peso, en los ajolotes que recibieron OptiLisina® (0,5 y 1 g/kg) en comparación al grupo control. En cuanto a la GDP, los grupos que

recibieron la dieta con lisina tuvieron un valor más alto que el grupo control, mientras la TEC fue muy similar en los tres tratamientos. El consumo de alimento fue menor en el grupo con la dieta de 1 g/kg de OptiLisina® siendo de 33, 95 g \pm 6,7. Así mismo el FCA fue menor en la dosis de 1 g/kg. En lo que corresponde al porcentaje de supervivencia ésta fue del 100% en los tres tratamientos.

Tabla 3. Valores promedio del crecimiento, factor de conversión alimenticia, consumo alimenticio y supervivencia de juveniles de *Ambystoma velasci* alimentados con *Tubifex* spp. enriquecido con tres dosis de OptiLisina®

Variables	Tratamientos con OptiLisina®			EEM	P	
	Control	0,5 g/kg	1 g/kg		L	C
Inicial						
	n= 40	n=40	n= 40			
P (g)	4,17 \pm 0,31	4,14 \pm 0,43	4,17 \pm 0,24	0,16	0,76	0,76
LT (cm)	7,49 \pm 0,21	7,54 \pm 0,36	7,55 \pm 0,17	0,13	0,78	0,81
LHC (cm)	4,25 \pm 0,14	4,39 \pm 0,28	4,39 \pm 0,18	0,10	0,66	0,29
Biomasa (g)	32,53 \pm 2,49	33,13 \pm 3,46	33,33 \pm 1,93	1,35	0,76	0,76
Final						
	n= 40	n= 40	n= 40			
P (g)	19,72 \pm 1,08	20,50 \pm 4,31	20,63 \pm 1,70	1,37	0,69	0,76
LT (cm)	12,45 \pm 0,22	12,70 \pm 0,96	12,65 \pm 0,36	0,30	0,56	0,83
LHC (cm)	6,67 \pm 0,15	6,91 \pm 0,44	6,79 \pm 0,24	0,15	0,28	0,98
Biomasa (g)	157,82 \pm 8,67	159,97 \pm 40,39	165,07 \pm 13,62	12,55	0,90	0,69
GDP (g/día)	0,33 \pm 0,02	0,35 \pm 0,06	0,35 \pm 0,01	0,10	0,45	0,31
TEC (%/día)	2,63 \pm 0,11	2,64 \pm 0,19	2,66 \pm 0,22	0,09	0,92	0,82
CON (g)	39,82 \pm 7,69	35,10 \pm 8,34	33,95 \pm 6,76	3,81	0,40	0,47
FAC	84,39 \pm 18,75	90,27 \pm 18,94	81,06 \pm 16,35	9,03	0,65	0,58
S (%)	100	100	100			

n= Número de ajolotes por tratamiento, P=Peso, LT= Longitud Total, LHC= Longitud Hocico-Cloaca, GDP= Ganancia diaria de peso, TEC= Tasa Específica de Crecimiento, CON= Consumo Alimenticio, FCA=Factor de Conversión Alimenticia, S= Supervivencia. EEM= Error Estándar de la Media, efecto lineal (L) o cuadrático (C) ($P < 0.05$).

Al respecto, Hamid *et al.* (2017) y Li *et al.*, (2021) sugieren que es recomendable la incorporación de aminoácidos como la lisina y metionina a la dieta, ya que en la mayoría de las especies estos aminoácidos esenciales no pueden ser sintetizados por el organismo y por lo tanto deben ser suministrados en la dieta debido a que desempeñan un papel importante en el metabolismo celular y síntesis de proteínas, además de que la deficiencia de éstos aminoácidos reduce el crecimiento de los organismos. Por otra parte, la información en cuanto a los requerimientos de lisina en anfibios es desconocido, así como el efecto de éste en la dieta de ejemplares en confinamiento, con frecuencia ha utilizado más en las dietas para mamíferos como los cerdos, por ello es importante realizar estudios sobre la incorporación de aminoácidos en la alimentación de organismos acuáticos como lo es el anfibio *A. velasci* (Vázquez *et al.*, 2019). Por otra parte, en un estudio realizado por Guzmán *et al.*, (2013) en donde se adicionaron diferentes dosis de lisina (0,0, 0,1, 0,2 y 0,3%) a la dieta de la iguana negra con 28 días de edad, observaron una respuesta positiva en el incremento en peso con las dosis altas de lisina, así mismo se observó el crecimiento del tamaño de la cabeza, longitud total y longitud hocico-cloaca. Concluyendo que la adición de lisina a la dieta de la iguana negra en los primeros seis meses de vida es importante para estimular el crecimiento y consumo de alimento. Esto fue muy similar a lo que se observó en este trabajo ya que los ejemplares que recibieron la dieta con lisina se encontraban en etapa

juvenil y mostraron una tendencia positiva en el aumento de peso y un ligero incremento en la longitud total y longitud hocico-cloaca. En un estudio realizado por Nguyen y Davis (2016) quienes incorporaron lisina en la dieta de bagre (*Ictalurus punctatus*) y en Tilapia (*Oreochromis niloticus*), observaron efectos significativos ($P < 0,05$) en la ganancia de peso en los grupos a los que se le adicionó lisina a la dieta, concluyendo que la suplementación de lisina en las dietas formuladas es fundamental para mejorar los valores nutricionales. García y García (2015) refiere que la adición de complementos de origen herbal a los alimentos ha logrado satisfacer las necesidades alimenticias de los animales y además la mortalidad reduce ya que el sistema inmune se ve beneficiado, en este sentido en este estudio no hubo mortalidad con o sin la incorporación de este suplemento a base de lisina herbal, lo cual indica que no se ven alterados los parámetros fisicoquímicos del agua lo que favorece el cultivo de estos organismos. En cuanto a los valores de parámetros fisicoquímicos se mantuvieron semejantes en los grupos, pH de 7,2, el nivel de amonio, nitratos y nitritos fueron de 0.02 mg/L, 7.13 mg/L y 0.1 mg/L respectivamente, y una temperatura de 19°C estos valores se encuentran dentro del rango reportado para la especie en condiciones de cautiverio de acuerdo con Vázquez *et al.*, 2019, evidenciando que este compuesto herbal de lisina no altera la concentración de compuestos nitrogenados en el agua que podrían ocasionar una alta mortalidad en los organismos.

Conclusiones

Con la adición de OptiLisina® al alimento vivo *Tubifex* spp. se pudo observar una tendencia en el aumento de los parámetros de crecimiento de *A. velasci* alimentados con la dosis de 1g/kg de OptiLisina®. Sin embargo, *A. velasci* al ser una especie de cultivo no convencional se necesitan realizar más estudios sobre los requerimientos nutriciona-

les de este anfibio ya que son escasos y no sólo de lisina sino también de otros aminoácidos esenciales, ya que suelen ser deficientes en la dieta y son condicionantes para el crecimiento de los organismos, para así realizar mejores estrategias de alimentación específicos para la especie y favorecer su mantenimiento en cautiverio.

Agradecimientos

Se agradece a la empresa Nuproxa-México Nuproxa-Suiza, Indian Herbs® por la donación de OptiLisina® y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT),

por la beca otorgada para la realización de los estudios de Posgrado de la Maestría en Ciencias Agropecuarias.

Conflicto de intereses: Los autores manifiestan que no existe ningún tipo de conflicto de intereses.

Literatura Citada

- Chaparro-Herrera, D. D. J., S. Nandini y S. S. S. Sarma. 2013. Effect of water quality on the feeding ecology of axolotl *Ambystoma mexicanum*. *Journal of Limnology* 72 (3): 555-563.
- Ferrie G. M., V. C. Alford, J. Atkinson, E. Baitchman, D. Barber, W. S. Blaner, G. Crawshaw, A. Daneault, E. Dierenfeld, K. Sullivan, S. Terrell, N. Wertan, C. J. Wheaton, B. Wilson & E. V. Valdes. 2014. Nutrition and health in amphibian husbandry. *Zoo Biology* 33 (6): 485-501.
- García, H., y C. García. 2015. Uso de los aditivos en la alimentación animal. Instituto de Ciencia Animal. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.
- Guzmán, J.O., J.L. Arcos-García, M.G.D. Mendoza, P.F.X. Plata, M.G. Fuentes, I.G. Ruelas. 2013. Effect of Lysine Addition on growth of Black Iguana (*Ctenosaura pertinata*). *Zoo Biology*. 32: 277-280.
- Hamid, S. N. I. N., M. F. Abdullah, S. Zakaria, Z. Jamilah, H. M Yusof y R. Abdullah. 2017. The effects of protein-bound



- methionine and lysine on the growth rate, feed utilization and digestibility for African catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings. *Journal of Advanced Research in Materials Science*, 8-19.
- IUCN. 2021. Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN. Versión 2021-2. <https://www.iucnredlist.org>
- Li, B. S., X. J. Han, J. Y. Wang, Z. D. Song, Y. Z. Sun, S. X. Wang, y B.S. Huang. 2021. Optimal dietary methionine requirement for juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* selenka. *Aquaculture Research*, 52(4), 1348-1358
- Lorenzana M.A., C.A., Lizarazo, H.M. Torre, P.F.X. Plata, M.G. Mendoza. 2020. Comparison of a Polyherbal Mixture with a Rumen-Protected Lysine on Lamb Growth, Protozoan Count and Blood Chemistry. *Revista Internacional de Agricultura y Ciencias Biológicas*: 4 pp. 32-39
- Luna-Figueroa, J., E. A. Uribe, y J. F. Torres. 2018. Ventajas e inconvenientes del uso de alimento vivo en la nutrición de peces. *Inventio. La génesis de la cultura universitaria en Morelos*. 14(33), 39-43.
- Mirman, D. 2014. Growth curve analysis and visualization using R. Chapman & Hall. CRC Press. Boca Raton, FL. 170 p
- Nguyen, L., y D. A. Davis. 2016. Comparison of crystalline lysine and intact lysine used as a supplement in practical diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 464, 331-339.
- Paolella, C.M. 2020. Aditivos herbales: un cambio de paradigma basado en la ciencia. *Boletín de la Red Alimentaria*. Nuproxia Argentina S.A. Disponible en: https://www.redalimentaria.com/blog/aditivos-herbales-un-cambio-de-paradigma-basado-en-la-ciencia_7284
- Parasuraman, S., G.S. Thing, y S.A. Dhanaraj. 2014. Polyherbal formulation: Concept of Ayurveda. *Pharmacogn* 8(16):73-80.
- Parra-Olea, G., O. Flores-Villela y C. Mendoza-Almeralla. 2014. Biodiversidad de anfibios en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85:460-466.
- Rampe, M. C. C. Pacheco, M. L. Vargas Júnior, J. G. Giannotti, J. D. G. Demuner, L. F., y J. F. Marin. 2014. Adição de lisina digestível em rações experimentais para juvenis de tilápia-do-nilo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66(5):1557-1566.
- Rodríguez-Amador, R., S. Monks, y G. Pulido-Flores. 2013. Primer reporte helmintológico de *Ambystoma velasci* (Dugés, 1988) de Lago de Tecocomulco, Hidalgo, México. *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*, 2:113-120.
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. *Diario Oficial de la Federación (DOF)*.
- Vázquez-Silva, G., M.F.C. Arana, A.K López, P.A. Hernández, G.D. Mendoza, J.A. Martínez. 2019. Efecto de la levadura de Selenio en el crecimiento, supervivencia y potencial reproductivo de *Ambystoma mexicanum*. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 6: Suplemento 2:1521-1526.
- Watanabe, W. O., P. M. Carroll, M. S. Alam, C. F. Dumas, J. E. Gabel, T. M. Davis, y C. D Bentley. 2021. The status of black sea bass, *Centropristis striata*, as a commercially ready species for US marine aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(3):541-565.