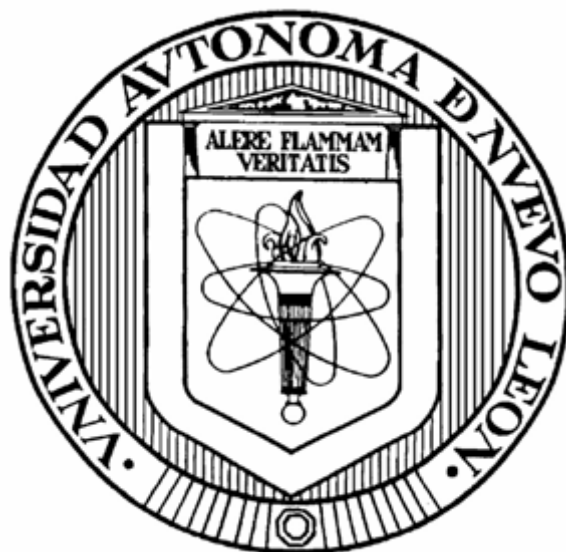


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DISTRIBUCIÓN DE LA ENERGÍA Y ANÁLISIS DE CRECIMIENTO EN GRUPOS
FAMILIARES SELECCIONADOS GENÉTICAMENTE DEL CAMARÓN *L.*
vannamei (Boone, 1931) ALIMENTADOS
CON FUENTES DE PROTEÍNA VEGETAL

Por

JORGE ARTURO SUÁREZ NAVARRETE

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS

Noviembre, 2008

**DISTRIBUCIÓN DE LA ENERGÍA Y ANÁLISIS DE CRECIMIENTO EN
GRUPOS FAMILIARES SELECCIONADOS GENETICAMENTE DEL
CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) ALIMENTADOS
CON FUENTES DE PROTEÍNA VEGETAL**

Comité de Tesis

Dra. Graciela García Díaz
Director de la tesis
Presidente

Dra. Julia Verde Star
Secretario

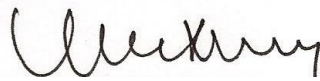
Dra. Guadalupe Alanís
Vocal 1

Dr. Roberto Mendoza
Vocal 2

Dr. Carlos Amaya
Vocal 3

**DISTRIBUCIÓN DE LA ENERGÍA Y ANÁLISIS DE CRECIMIENTO EN
GRUPOS FAMILIARES SELECCIONADOS GENETICAMENTE DEL
CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) ALIMENTADOS
CON FUENTES DE PROTEÍNA VEGETAL**

Comité de Tesis



Dr. Gerad Cuzon
Director Externo de la tesis



Dra. Gabriela Gaxiola
Asesor Externo de la UNAM

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis esta dedicada especialmente con todo mi amor a Dios a mis padres, abuelos, hermanos y sobrinas.

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos:

A mi Angel Mexicana que me mostró una luz en el momento de oscuridad.

Al Dr. Gerard Cuzón y Dra. Gabriela Gaxiola por que me mostraron que el conocimiento y sabiduría no se puede encarcelar y que no tiene ningún valor si no van acompañados de humildad y sencillez. Gracias por todo el apoyo que me han brindado para la realización de este trabajo.

A la Dra. Guadalupe Alanís que a pesar de las dificultades siempre me ayudo y me respaldo.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Graciela García Díaz por la dirección de este trabajo.

Al Dr. Roberto Mendoza, Dra. María Julia Verde Star y Dr. Roberto Mercado por su confianza y consejos.

Al Dr. Carlos Rosas por su apoyo incondicional en los momentos más difíciles.

Al Sr. Sergio Martínez por su apoyo en los últimos 15 años.

A la Corporación Centro Investigación de la Acuicultura de Colombia por el soporte económico para la realización de mis estudios.

A la empresa NICOVITA y CENIACUA por financiar esta investigación.

A mis amigos de Sisal.

A mis compañeros y amigos de CENIACUA

A mis amigos y familiares Lina María Suárez, Marta Helena Suárez, Francisco Hernández, María Fernanda Cubillos, Jaime Martínez y Juan Solís.

A Jesús Piñeros.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	iv
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS.....	2
3. OBJETIVOS	3
3.1 Objetivo general	3
3.2 Objetivos específicos	3
4. ANTECEDENTES.....	5
4.1 Nutrición y genética	5
4.2 Hábitos alimenticios <i>L. vannamei</i>	7
4.3 Reemplazo harina de pescado	8
4.4 Digestibilidad	15
5. MÉTODO.....	20
5.1 Fase 1. Digestibilidad y balance energético	21
5.1.1 Adquisición de los ingredientes y análisis bromatológico.....	21
5.1.2 Formulación y fabricación de las dietas.....	23
5.1.3 Análisis de las dietas.....	24
5.1.4 Análisis sanitarios de los camarones.....	25
5.1.5 Bioensayo de crecimiento	25

5.1.6 Bioensayo de digestibilidad.	28
5.1.7 Bioensayo de respirometría: modelo balance energético	30
5.2 Fase 2. Niveles de inclusión óptimos de la proteína vegetal seleccionadas	33
5.2.1 Análisis bromatológicos de los ingredientes.	33
5.2.2 Formulación y fabricación de las dietas.	33
5.2.3 Análisis de las dietas.	33
5.2.4 Diseño experimental	34
5.2.5 Experimento tasa de tránsito.....	35
5.2.6 Análisis estadístico.	36
5.3 Fase 3. Evaluación del crecimiento de familias de <i>L. vannamei</i> alimentadas con una dieta a base de proteína vegetal	36
5.3.1. Producción de las familias.	36
5.3.2 Evaluación familias con las dietas experimentales.	37
5.3.3 Análisis estadístico.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1 Fase 1. Digestibilidad y balance energético	39
6.1.1 Análisis bromatológico y de calidad de los ingredientes.	39
6.1.2 Formulación	40
6.1.3 Bioensayo crecimiento	42
6.1.4 Bioensayo de digestibilidad	44
6.1.5 Proteína digestible consumida g-1 (g de biomasa ganado) en relación con la energía digestible (kJ).	47
6.1.6 Balance energético.	48
6.2 Fase 2. Niveles de inclusión óptimos de la proteína vegetal seleccionadas	49
6.3 Fase 3. Evaluación del crecimiento de familias de <i>L. vannamei</i> alimentadas con una dieta a base de proteína vegetal	55
6.3.1 Formulación	55
6.3.2 Análisis del Crecimiento.....	57
7. DISCUSIÓN	64

8. CONCLUSIONES73
LITERATURA CITADA75

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I.	Resumen de los estudios recientes de reemplazo de harina de pescado (FM) en peces (Fox <i>et al.</i> , 2004).....	10
II.	Resumen de los estudios recientes de reemplazo de harina de pescado (FM) en camarones.....	10
III.	Composición química de harinas vegetales, usadas para reemplazar la harina de pescado, (King 2004).....	11
IV.	Composición (% en base seca) de ingredientes procesado de chícharo (pea) (Fraser, 2005).....	13
V.	Coefficiente de digestibilidad aparente <i>in vivo</i> de productos derivados del chícharo para camarones, tilapia y trucha arco iris (Fraser, 2005).....	13
VI.	Resumen de los estudios recientes de digestibilidad en camarones, utilizando óxido de cromo como marcador inerte.....	18
VII.	Resumen de los estudios recientes de digestibilidad en camarones, utilizando otros marcadores inertes diferentes al óxido de cromo.....	19
VIII.	Composición proximal de las harinas vegetales (%).....	39
IX.	Factores antinutricionales en las harinas vegetales.....	40
X.	Composición de las dietas experimentales (% del alimento).....	41
XI.	Composición proximal de las dietas experimentales (% del alimento).....	41
XII.	Parámetros físico-químicos monitoreados en los bioensayos de crecimiento.....	43
XIII.	Resultados del experimento de crecimiento durante 56 días (media de cuatro réplicas \pm desviación estándar).....	43

XIV.	Parámetros físico-químicos bioensayo digestibilidad.....	45
XV.	Coefficientes de digestibilidad aparente (CDA) de la materia seca, proteína y energía en las dietas experimentales.....	45
XVI.	Coefficientes de digestibilidad aparente (CDA) de la materia seca, proteína y energía de los ingredientes.....	46
XVII.	Balace energético de las dietas experimentales (kJ camarón día ⁻¹).....	49
XVIII.	Composición proximal de las harinas vegetales (%).....	50
XIX.	Composición de las dietas experimentales (% del alimento).....	51
XX.	Composición proximal de las dietas experimentales (% del alimento).....	52
XXI.	Tiempo de la tasa de tránsito (minutos) de las dietas experimentales.....	52
XXII.	Parámetros físico-químicos bioensayo de crecimiento.....	53
XXIII.	Resultados del experimento de crecimiento durante 95 días (media de cuatro réplicas ± desviación estándar).....	53
XXIV.	Composición de las dietas experimentales (% del alimento).....	56
XXV.	Análisis proximal de las dietas evaluadas (g / 100 g de MS).....	57
XXVI.	Análisis de lixiviación y tasa de tránsito de las dietas evaluadas. Los datos representan la media y la desviación estándar para cuatro réplicas (r =4) por análisis *.....	57
XXVII.	Parámetros fisicoquímicos del bioensayo.....	58
XXVIII.	Parámetros productivos de dos grupos de 55 familias de <i>L. vannamei</i> alimentadas con dos dietas (0% y 30% de harina de pescado) durante 107 días de cultivo.....	59
XXIX.	ANOVA para la adecuación de el modelo lineal general (Proc GLM) en el peso de cosecha de 55 familias de hermanos enteros de <i>L. vannamei</i> alimentados con dos dietas (0% harina de pescado, 30% harina pescado). La variable de respuesta peso de cosecha a 107 días de cultivo. Análisis en SAS [®] por Tipo III. a, b.....	62

XXX.	Prueba F para el análisis de igualdad de varianzas entre 55 familias de <i>L. vannamei</i> alimentadas con dos dietas (0% harina de pescado y 30% harina de pescado).....	63
------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Proteína digestible consumida g-1 (g de biomasa ganado) en relación con la energía digestible (kJ).	48
2. Consumo (kJ día ⁻¹ camarón ⁻¹) en <i>L. vannamei</i> , alimentados con dos diferentes dietas (0 % harina pescado, 30% harina pescado) durante 107 días de cultivo. Los valores están corregidos por la lixiviación.....	60
3. Correlación entre el peso de cosecha de 55 familias de <i>L. vannamei</i> alimentadas con dos dietas (0% y 30% de harina de pescado).....	61

NOMENCLATURA

CDA materia seca	Coefficiente digestibilidad aparente materia seca
CDA proteína	Coefficiente digestibilidad aparente proteína
CDA energía	Coefficiente digestibilidad aparente energía
(AACs)	Coefficiente aparente de absorción de minerales
(AIA)	Método de cenizas insolubles
(ED)	Energía digestible
(UE+ZE)	Energía urinaria y branquial
(HiE)	Incremento de calor
(HeE)	Energía basal
(RE)	Energía de crecimiento
(SGR)	Tasa de crecimiento específica
(FCR)	Factor de conversión alimenticia
(DFI)	Consumo camarón día
(NPU)	Utilización proteica neta
(PER)	Tasa de eficiencia proteica
(FE)	Eficiencia alimenticia
%PMS	Porcentaje pérdida de materia seca
kJ	Kilo joules
N	Normalidad

MT	Millones de Toneladas
g	Gramos
l	Litros
h	Horas
m	Metro
mg	Miligramos
°C	Grados centígrados
(SBM)	Harina de soya
(FPM)	Harina de chícharo
(CM)	Harina de canola
(FM)	Harina de pescado
Cr ₂ O ₃	Óxido de cromo
Y ₂ O ₃	Acetato tetrahidratado de Yterbio tetrahydrate
NaH ₂ PO ₄	Fosfato monosódico
KH ₂ PO ₄	Monofosfato de potasio
HCl	Acido clorhídrico
Ca	Calcio
P	Fósforo
K	Potasio
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
Zn	Zinc
Cu	Cobre
Fe	Hierro

N	Nitrógeno
22: 6n3	Acido Docosahexanóico
20:5n3	Acido Eicosapentanóico
18:2n-6	Acido Linoléico
18:3n-3	Acido Linolénico
O ₂	Oxígeno
VO ₂	Consumo oxígeno
F	Flujo
AA	Aminoácidos
CV	Coefficiente de variación
S.D	Desviación estándar
ln	Logaritmo natural
Proc GLM	Modelo lineal general
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PL	Postlarva

RESUMEN

Tradicionalmente en la elaboración de los alimentos de alto rendimiento para camarones en cultivo se han empleado fuentes de proteína animal de origen marino. Destaca el uso de la harina de pescado, sin embargo actualmente, esta materia prima es mucho más costosa que los ingredientes no tradicionales. Además, el suministro puede fluctuar imprevisiblemente debido a la pesca extensiva o a cambios oceánicos a gran escala (fenómeno de “El Niño”). Por tal motivo el reemplazo de la harina de pescado por fuentes de proteína vegetal resulta estratégico teniendo en cuenta que el alimento representa el 45% de los costos de producción. El presente estudio fue orientado a comparar el efecto en crecimiento, digestibilidad, distribución de energía de grupos familiares de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentados con fuentes de proteína animal y vegetal. La metodología se dividió en tres fases 1) bioensayos de digestibilidad y balance energético de tres harinas vegetales 2) bioensayos de niveles de reemplazo de la harina de pescado por harinas vegetales evaluadas 3) un bioensayo de crecimiento de familias de *L. vannamei* alimentadas con una dieta con proteína vegetal (sin harina de pescado). La harina vegetal que presentó los mejores resultados tanto en los coeficientes de digestibilidad de la materia seca ($CDA_{\text{materia seca}}$), proteína ($CDA_{\text{proteína}}$) y energía ($CDA_{\text{energía}}$) fue la harina de soya con 80, 96.5 y 89.1, respectivamente. Los valores de $CDA_{\text{materia seca}}$, $CDA_{\text{proteína}}$ y $CDA_{\text{energía}}$ en este estudio tuvieron una tendencia a disminuir con la cantidad de fibra que contenían los ingredientes usados. Los resultados de los CDA para la canola fueron significativamente más bajos que los obtenidos para la harina de chícharo y de soya. En el balance energético, la dieta con harina de canola presentó el valor más bajo de la energía destinada para crecimiento (RE) $0.38 \text{ kJ camarón}^{-1} \text{ día}^{-1}$, comparada con las demás dietas experimentales que tuvieron valores superiores a $0.73 \text{ kJ camarón}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Los resultados en crecimiento y sobrevivencia en el bioensayo de niveles de inclusión confirman que *L. vannamei* puede ser alimentado con dietas formuladas con un 6% de inclusión de harina de pescado sin afectar su desempeño en sobrevivencia y crecimiento. El experimento de evaluación de las familias con dietas con y sin harina de pescado sugieren que *L. vannamei* bajo un control de la consanguinidad no ha perdido su habilidad en la utilización efectiva de dietas alternativas basadas en harinas vegetales sin harina de pescado. La interacción familia x dieta fue significativa indicando que el efecto dieta tiene influencia en el potencial de crecimiento de las familias de *L. vannamei* y que la utilización de las fuentes de proteína vegetal por parte de los camarones podría ser mejorada con programas de selección genética.

ABSTRACT

Marine animal protein sources have been used traditionally in the elaboration of high performance food for shrimp. Fish flour is the most used, but currently this ingredient is a lot more expensive than non traditional ingredients. Besides, supply can change unexpectedly due to extensive fishing or big oceanic changes (“El Niño” phenomena). For these reasons the replacement of fish flour by sources of vegetable protein is strategic because food represents 45% of the production costs.

This research was oriented to compare the effect in the growing rate, digestibility and energy distribution in white shrimp *Litopenaeus vannamei* family groups fed with animal and vegetable protein sources. The methodology was divided in three (3) phases: 1) digestibility and energy balance bioassay in three vegetable meals 2) replacement levels bioassay for fish meal by the evaluated vegetable meals 3) a bioassay to evaluate the growth in *L. vannamei* families fed with a vegetable protein diet (with out fish meal). Soy meal showed the best results in dry matter digestibility level ($ADC_{\text{dry matter}}$ of 80), protein (ADC_{protein} of 96.5) and energy (ADC_{energy} of 89.1). The values for $ADC_{\text{dry matter}}$, ADC_{energy} and ADC_{protein} in this research showed a tendency to decrease with the amount of fiber present in the used ingredients. ADC values for canola were lower than the ones obtained by feed pea and soy meal. In the energy budget, canola diet showed the lowest value a recovered energy (RE) $0.38 \text{ kJ shrimp}^{-1} \text{ day}^{-1}$, compared to the other experimental diets that showed values above $0.73 \text{ kJ shrimp}^{-1} \text{ day}^{-1}$. Results for growth and survival in the inclusion levels bioassay confirm that *L. vannamei* can be fed with diets formulated with 6% fish meal inclusion with out affecting their performance in growth and survival. The test to evaluate families in diets with and with out fish flour, suggests that *L. vannamei* have not lost their ability in the effective use of alternative diets based in vegetable flours with out fish meal. The family x diet interaction was important, showing that the diet effect affects the potential growth of the *L. vannamei* families and that the use of vegetable protein sources by shrimp might be improved with genetic selection programs.

1. INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de harina de pescado de buena calidad es una limitante en el desarrollo de alimentos que satisfagan los requerimientos nutricionales del camarón de cultivo. En este sentido, la elaboración de nuevas dietas utilizando fuentes de proteína de origen vegetal resulta indispensable. Entender el rendimiento de los camarones a diferentes fuentes de proteína vegetal, y el reparto de energía asociado a la alimentación, es prioritario y estratégico, teniendo en cuenta que el alimento representa aproximadamente el 45% de los costos de producción. El alto desarrollo que han obtenido las industrias avícolas, porcícolas y ganaderas (tanto de leche como de carne) se ha debido al trabajo en investigación conjunta entre la selección genética y la nutrición (Koong *et al.*, 1983; Noblet *et al.*, 1991). Teniendo en cuenta que el programa de selección en Colombia para el camarón *L. vannamei* se ha basado desde sus inicios (1997) en la selección de familias alimentadas con alimentos comerciales con altos niveles de harina de pescado (30%), se desconoce si estos camarones seleccionados, bajo un control de la consanguinidad ha perdido su habilidad en la utilización efectiva de dietas alternativas basadas en harinas vegetales sin harina de pescado. En este estudio se presenta el primer reporte de interacción familia x dieta en el camarón *L. vannamei* con el propósito de determinar si la utilización de las fuentes de proteína vegetal por parte de los camarones podría ser mejorada con programas de selección. Teniendo en cuenta que el programa de mejoramiento genético de la Corporación Centro Investigación de la Acuicultura de Colombia CENIACUA, es reconocido como uno de los más importantes en el hemisferio occidental, con los resultados de esta investigación la industria de camarón de Latino Americana, en el futuro podría disponer de semilla seleccionada genéticamente capaz de aprovechar de una forma más eficiente las proteínas de origen vegetal, permitiendo de esta forma aumentar la competitividad y sustentabilidad de la camaronicultura en la región.

2. HIPÓTESIS

Debido a que *L. vannamei* es una especie omnívora capaz de digerir alimentos de muy diverso origen, y que está sujeta a un control de la consanguinidad dentro de un programa de selección, se espera encontrar variación en el peso de cosecha, en familias enteras, alimentadas con una dieta con altos niveles de inclusión de proteína vegetal.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Comparar el efecto en la distribución de energía y crecimiento de grupos familiares de camarón blanco *L. vannamei* (Boone, 1931) alimentados con fuentes de proteína animal y vegetal.

3.2 Objetivos específicos

- a) Evaluar y elegir una o más fuentes de proteína vegetal para el camarón *L. vannamei*, seleccionado genéticamente, basados en los rendimientos de sobrevivencia, crecimiento, tasa de eficiencia proteica (PER), utilización proteica neta (NPU), digestibilidad aparente de materia seca, proteína y energía obtenidos con las tres fuentes de proteína vegetal.
- b) Evaluar el efecto de diferentes fuentes de proteína vegetal en tasa de ingestión, excreción, respiración y la distribución de energía con el propósito de obtener los diferentes modelos de balance energético.
- c) Determinar el nivel de inclusión óptimo de la(s) fuente(s) de proteína vegetal elegida(s) para el camarón *L. vannamei* seleccionado genéticamente.

d) Determinar el peso de cosecha y la interacción familia x dieta de 55 familias alimentadas con una dieta alta en proteína vegetal, comparado con una dieta comercial con altos niveles de harina de pescado.

4. ANTECEDENTES

4.1 Nutrición y genética

El alto desarrollo que han obtenido las industrias avícolas, porcícolas y ganaderas (tanto de leche como de carne) se ha debido al trabajo en investigación conjunta entre la selección genética y la nutrición (Koong *et al.*, 1983; Noblet *et al.*, 1991). Estudios realizados en cerdos por Koong *et al.*, (1983) y Noblet *et al.*, (1991) indican que existe variación en los requerimientos de energía de mantenimiento, entre líneas genéticas de cerdos seleccionadas para características como peso, calidad de la carne y reproducción, lo cual ha permitido elaborar dietas específicas de acuerdo a los requerimientos nutricionales de cada línea, logrando de esta forma potencializar la mejora genética. Por otro lado, la depositación máxima de proteína esta directamente relacionada con los requerimientos diarios de aminoácidos y los requerimientos de energía dietaria (Black *et al.*, 1986; de Lange *et al.*, 1996). A este respecto, recientemente Thong *et al.*, (2004) menciona que los cerdos modernos tienen un alto potencial para la depositación de proteína en comparación con los primeros genotipos.

De la misma manera, mejorar la eficiencia alimenticia en la selección genética de pollos ha sido una gran meta para esta industria (Mignon *et al.*, 2004). Pym 1990; citado por Mignon *et al* (2004) describe algunos factores que mejoran la eficiencia alimenticia tales como el aumento en el consumo del alimento, la reducción en los requerimientos de mantenimiento, la reducción en la grasa corporal y el incremento en la digestibilidad. En concordancia con lo anterior, han sido observadas diferencias significativas entre líneas de pollos, en términos de energía metabolizable (EM) (Sibbald y slinger., 1963;

Proudman *et al.*, 1970; Laurin *et al.*, 1985; Jorgensen *et al.*, 1990; Pym., 1990; Ten Doeschate *et al.*, 1993; citado por Mignon *et al.*, 2004).

Por otra parte, Pym *et al.*, 1984; citado por Mignon *et al.*, (2004), comparó líneas genéticas seleccionadas para alto peso corporal (BW), consumo de alimento y eficiencia alimenticia y después de 10 generaciones observó diferencias notables en energía metabolizable (EM) entre las líneas de alto consumo de alimento y las líneas de alta eficiencia alimenticia. De igual manera, Mignon *et al.*, (op.cit.) concluye que la selección genética para mejorar la energía metabólica aparente (AMEn) en pollos, mejora simultáneamente la digestibilidad de proteína, almidón y lípidos.

En peces se ha reportado que los factores genéticos tienen influencia en los requerimientos de aminoácidos (Pack y Rodehutscard, 1995; Furuya *et al.*, 2004). Así, la variación genética en digestibilidad de nutrientes y la energía metabolizable en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) ha sido reportado para proteína (Austreng y Refstie, 1979; citado por Thodesen *et al.*, 2001), y carbohidratos y energía (Refstie y Austreng, 1981; citado por Thodesen *et al.*, 2001). Thodesen *et al.*, (2001) encontró variaciones genéticas en el coeficiente aparente absorción de minerales (AACs) en 82 familias enteras del salmón del atlántico, reportando que el componente “macho” explica el 54%-81% de la variación en AACs de los elementos minerales y el 60% de la variación de la AACs de la ceniza.

Basados en los resultados obtenidos en mamíferos, donde se ha observado que algunos lípidos dietarios intervienen en la regulación de la expresión de algunos genes involucrados en el metabolismo de lípidos, Klevelans *et al.*, (2006) y Kolditz *et al.*, (2006) han estado identificando genes y proteínas, involucrados en el control del almacenamiento de grasas en el salmón del Atlántico y trucha arco iris, con el objetivo de que estos peces usen de una forma más eficiente los lípidos de las dietas para la

producción de energía y no para su almacenamiento. A este respecto, Kolditz *et al.*, (2006) concluye que la selección genética y los tratamientos dietarios son una herramienta útil para el manejo de los contenidos de lípidos en los peces.

4.2 Hábitos alimenticios *L. vannamei*

Al tener como marco los antecedentes anteriormente expuestos de trabajos conjuntos entre genética y nutrición y el efecto que pueden tener los nutrientes en la expresión fenotípica, a continuación se presenta un resumen sobre los hábitos alimenticios de los camarones a través de sus ciclo de vida con el propósito de evidenciar que *L. vannamei* en su medio natural consume proteína vegetal y tiene el equipo enzimático para degradarla.

Los camarones peneidos han sido clasificados como omnívoros oportunistas, por lo que presentan una amplia gama de enzimas digestivas, tales como proteinasas endoproteinasas, exoproteinasas, esterases no específicas, lipasas, amilasa, maltasa, sucrasa, quitinasa, y celulasa (Lovett y Felder, 1990 a) y laminarinasas (Le Moullac, *et al.*, 1994). La mayor parte de estas enzimas han sido determinadas para las larvas de *L. vannamei*.

El análisis del contenido estomacal señala la presencia de camarones, poliquetos, moluscos bivalvos, ofiuridos, nemátodos y detritus de origen vegetal. De cualquier manera, los camarones peneidos y especialmente *L. vannamei*, presentan un equipo enzimático capaz de digerir alimentos de muy diverso origen (Lovett y Felder 1990 a). Sin embargo, en estos organismos se presentan cambios ontogenéticos del tracto digestivo, tanto morfológicos, como a nivel de enzimático. (Lovett y Felder, 1990 a, b), que corresponden de manera directa a los cambios de hábitat (oceánico en adultos y

larvas a estuarino en postlarvas y juveniles), y de hábitos alimenticios. Hay evidencias de que la gran flexibilidad de la respuesta enzimática hacia la dieta en los estadios larvales explica la habilidad de crecer y sobrevivir con alimentos del zoo y fitoplancton. (Rodríguez *et al.*, 1994; Kumarly *et al.*, 1989). Por otro lado y relacionado con el origen de la proteína se han encontrado diversas respuestas enzimáticas, especialmente de la tripsina, con diferentes condiciones alimentarias en las larvas de camarón. Así, por ejemplo se ha determinado un incremento de la tripsina cuando las larvas son alimentadas con alimentos artificiales (Kumlu y Jones, 1995; Le Vay *et al.*, 1993). Sin desconocer la influencia marcada de la proteína animal en los camarones peneidos, algunas especies han desarrollado hábitos más carnívoros que otras, por ejemplo *L. stylirostris*, comparado con *L. vannamei* (García-Casa, 1990; Garson *et al.*, 1986). A pesar de estas generalizaciones, aún las especies predominantemente carnívoras, consumen también material vegetal dependiendo de la disponibilidad de alimento y de la estacionalidad (Tacon y Akiyama, 1997).

4.3 Reemplazo harina de pescado

La industria de los alimentos en la acuicultura es fundamentalmente diferente a la industria de las especies terrestre, por su alta dependencia en dos productos generados por la pesca mundial: harina de pescado y aceite de pescado. La producción total de harina de pescado en la actualidad es de aproximadamente 6 millones de toneladas por año y la del aceite de pescado de 1.4 millones de toneladas por año. El nivel de producción se espera que se mantenga constante en el mejor de los escenarios, o bien que decline en el futuro. En contraste, la producción de alimento para la acuicultura se espera que se triplique en esta década (2000-2010). Esta diferencia entre suministro y demanda amenaza seriamente la acuicultura, a menos que se desarrollan fuentes alternativas de proteína y aceite. Tradicionalmente en la elaboración de los alimentos de alto rendimiento para el cultivo de camarón se han empleado fuentes de proteína de origen animal marino. Destaca el uso de la harina de pescado, sin embargo actualmente,

esta materia prima es mucho más costosa que los ingredientes no tradicionales (Samocha *et al.*, 2004). Además, el suministro puede fluctuar imprevisiblemente debido a la pesca extensiva o a cambios oceánicos a gran escala (fenómeno de “El Niño”) (Forster *et al.*, 2003). También, la calidad de la harina de pescado puede variar debido a la utilización de los desperdicios del pescado y altas temperaturas de secado. Desde hace ya varias décadas, en la industria de la fabricación de alimentos balanceados para camarón, se han empleado fuentes de proteína vegetal, (Tacon 1990; Tacon y Akiyama, 1997). La proteína vegetal tiene una calidad consistente por lo cual resulta económica y nutricionalmente viable como fuente de proteína (Davis *et al.*, 2000). Sin embargo, Akiyama (1991) menciona que los suplementos proteicos vegetales son considerablemente más pobres en energía que las harinas de pescado, por lo que los valores de energía deben ser monitoreados, ya que el balance de proteína energía es esencial en la formulación de dietas eficientes. También menciona que la disponibilidad del fósforo es considerablemente más baja en los productos vegetales que en los animales y difiere significativamente entre especies. De igual manera, algunas proteínas vegetales presentan niveles sub-óptimos en los perfiles de aminoácidos esenciales y la mayoría presentan factores antinutricionales. Sin embargo, gracias a los modernos procesos tecnológicos diversas materias primas de origen vegetal han sido usadas para sustituir la harina de pescado con la finalidad de disminuir los costos de producción del cultivo de peces y camarones. Resultados recientes (Jiménez-Yan, 2004; Cuzon, *et al.*, 2003, Gaxiola *et al.*, 2005), han mostrado que al menos en la fase postlarval, *L. vannamei* no presentó supervivencias ni crecimientos significativamente diferentes con alimentos en los que se ha sustituido hasta un 90% la proteína animal marina, por combinaciones de fuentes de proteína de origen vegetal.

A este respecto, Fox *et al.*, (2004), presenta un resumen de algunos estudios de reemplazo de harina de pescado en peces (Tabla I)

Tabla I.

Resumen de algunos estudios de reemplazo de harina de pescado (FM) en peces (Fox *et al.*, 2004)

Estudio	Reemplazo	Especie
Kaushik <i>et al.</i> , 2004	Proteína vegetal; Decrece FM, proteína hasta 2%	<i>Dicentrarchus labrax</i>
Chou <i>et al.</i> , 2004	Harina de soya; Reemplazo 40% de la FM	<i>Rachycentron canadium</i>
Glencross <i>et al.</i> , 2003	Harina de grano de lupin; 37,5% reemplazo de FM	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Meilahn <i>et al.</i> , 1996	PROPAK™ (harina animal con aminoácidos cristalinos); reemplazo 50% FM	<i>Sciaenops ocellatus</i>

En la Tabla II se presenta un resumen de los estudios de reemplazo de la harina de pescado con proteínas de origen vegetal en camarones.

Tabla II

Resumen de estudios de reemplazo de harina de pescado (FM) en camarones

Estudio	Reemplazo	Especie
Lim y Dominy, 1990	Harina de soya; 40% de reemplazo de harina de pescado, harina de cabeza de camarón y harina de calamar	<i>L. vannamei</i>
Piedad-Pascual <i>et al.</i> , 1990	Harina de soya; 55% inclusión. Baja densidad de siembra	<i>Penaeus monodon</i>
Sudaryono, 1999	Logró reemplazar 75% harina de pescado por harina de Lupin.	<i>Penaeus monodon</i>
Amaya <i>et al.</i> , 2007	Harina de soya; 0% harina de pescado. En agua verde	<i>L. vannamei</i>
Alvarez <i>et al.</i> , 2007	Reemplazo del 76,5% harina de pescado. Harina de soya	<i>Penaeus schmitti</i>

La soya, el chícharo y la canola son tres fuentes de proteína vegetal de gran importancia por su calidad proteica, precio razonable y suministro constante. En la actualidad se utilizan ampliamente en la elaboración de alimentos para diferentes especies de organismos acuáticos. King (2004) hace un resumen de la composición química de harinas vegetales, usadas para reemplazar la harina de pescado (Tabla III).

Tabla III.

Composición química de harinas vegetales, usadas para reemplazar la harina de pescado, elaborado por King (2004)

Harina	Humedad	Proteína cruda	Grasa cruda	Cenizas	Fibra cruda	Referencias
Soya	10.78	42.67	1.37	7.06	4.03	Baustista-Tereul.,(2003)
Canola descascarada		35.3	5,6	6.2		Carter <i>et al.</i> , (2002)
Chícharo (cow peas)	7.4	25.1	4.9	4.1	7.2	New, (1987)
Chícharo (biscalto)	11.2	23.7	1.7	3.5	6.8	Gouviera <i>et al.</i> , (1991)

Actualmente, la harina de soya es la proteína vegetal más usada y está considerada como una alternativa viable para el reemplazo de la harina de pescado (King, 2004). La soya es valorada nutricionalmente por su alto contenido proteico y su perfil de aminoácidos adecuado para ciertas especies de organismos acuáticos. En términos de lípidos la composición de la harina de soya, contiene 90% menos de ácidos grasos n-3 que la harina de pescado y contiene factores antinutricionales que causan la inhibición de actividad enzimática (Proteasas alcalinas). Los factores antinutricionales son desactivados por tratamiento térmico. Los procesos de extrusión, también mejoran los coeficientes de digestibilidad de la proteína de la soya (Kaushik 1989; citado por King, 2004).

Feed Pea o chícharo es la designación para las variedades de chícharo de *Pisum sativum*. Canadá es el productor y exportador más grande de chícharo seco. Thiessen

(2004) reporta que el promedio de contenido proteico para el chícharo (N x 6,25) es aproximadamente 23% con un alto contenido en lisina (1,67%), no obstante resulta deficiente en el contenido de aminoácidos sulfurados. El chícharo contiene niveles moderados de fibra (fibra cruda 5,5%). La fracción energética de las semillas de chícharo se debe al almidón, el cual contribuye aproximadamente con el 50% del total del peso de la semilla. El almidón del chícharo difiere del almidón de otros cereales, ya que contiene un 34% de amilosa, lo que permite mediante tratamiento térmico mejorar la digestibilidad. Al igual que la mayoría de las plantas el chícharo contiene factores anti-nutricionales, dentro de los cuales se incluye ácido fítico (27-41% del total de fósforo), taninos, inhibidores de tripsina y quimo tripsina entre otros, debido a esfuerzos en la selección genética, algunos factores anti-nutricionales han sido sustancialmente reducidos o eliminados (Castell *et al.*, 1996). Las harinas que se producen del chícharo son igualmente efectivas en proveer tanto energía (carbohidratos) como proteína en la dieta (Davis *et al.*, 2002).

Diversos estudios han demostrado los beneficios de utilizar esta fuente proteica. Así, Bautista Tereul *et al.*, (2003) encontraron que no se presentaban cambios en las tasa de crecimiento en *P. monodon* al incluir niveles del 25%. Por otra parte, Smith *et al.*, (1999), observó una digestibilidad del 80% de la la harina de chícharo en dietas artificiales suministradas a juveniles de *P. monodon*. En el mismo sentido, Davis *et al.*, (2002) demostraron que el proceso de extrusión incrementa aún más la disponibilidad de energía y los coeficientes de digestibilidad. Finalmente, Eusebio, (1991) señala que el valor nutritivo del chícharo se incrementa al ser descascarado. Fraser, (2005) presenta un resumen de los diferentes tipos de procesos tecnológicos del chícharo, su composición y digestibilidad en camarones, tilapia y trucha (Tabla IV y V).

Tabla IV

Composición (% en base seca) de ingredientes procesados de chícharo (pea) (Fraser, 2005)

Tipo de proceso	Materia seca	Proteína	Lípidos	Fibra	Ceniza	Extracto libre de N ¹	Almidón
Chícharo entero	93	21	1,4	6,3	3,0	68	59
Chícharo entero extruído	92	22	1,6	6,5	2,3	77	58
² Chícharo entero micronizado	91	22	1,5	7,2	3,2	69	61
Chícharo descascarado	92	24	1,4	1,5	3,1	70	60
Chícharo descascarado extruído	92	23	1,6	1,6	3,0	70	59,5
³ Harina proteína de chícharo	90	50	2,5	2,1	4,8	43	23
⁴ Concentrado proteico de chícharo	93	76	3,0	1,0	4,0	2,4	0,4

1 Extracto libre de Nitrógeno, calculado por diferencia

2 Infraready Products Ltd. Saskatoon, SK.

3 Prestige Protein, Parrheim Foods, Saskatoon, SK.

4 Propulse 975, Parrheim Foods, Portage, MB.

Composición de amino ácidos como alimento (23% base proteína cruda) del chícharo: Arginina 2.31%, Histidina 0.72%, Isoleucina 1.10%, Leucina 1.80, Lisina 1.67%, Metionina 0.28, Metionina + Cisteina 0.50%, Fenilalanina 0.98%, Fenilalanina + Tirosina 1.71%, Treonina 0.84%, Triptofano 0.19%, Valina 1.05%. Composición de minerales (% peso seco): Ca 0.07%, P 0.34%, K 0.97%, Mg 0.12%.

Tabla V

Coefficiente de digestibilidad aparente *in vivo* de productos derivados del chícharo para camarones, tilapia y trucha arco iris (Fraser, 2005)

Chícharo	%digestibilidad materia seca			% Digestibilidad proteína		
	Camarón	Tilapia	Trucha	Camarón	Tilapia	Trucha
Entero crudo	89	79	42	79	85	91
Descascarado crudo	88	88	47	85	90	91
Descascarado Extruído	92	84	74	83	94	94
Harina proteica	82		84	92		95

Canola (*Brassica campestris* ó *Brassica napus*) se refiere a las variedades seleccionadas bajas en glucosinolato y ácido erucico. El contenido de proteína (N x 6,25) de la harina de canola es de 35% y es reconocida como una fuente importante de aminoácidos sulfurados como metionina y cisteína. Adicionalmente, esta harina contiene una compleja estructura de carbohidratos: 80% de azúcares, 5.2% de almidón, y polisacáridos no relacionados con el almidón. Sin embargo, contiene altos niveles de fibra cruda (12%) debido a que generalmente las semillas de canola no son descascaradas antes de la extracción del aceite. También contiene altos niveles de ácido fitico, componentes fenólicos como el sinapine y taninos (Thiessen, 2004). El Sinapine (1%) tiene un sabor amargo y puede tener efectos negativos en la palatabilidad de los alimentos si los productos de la canola son incluidos en altos niveles, particularmente en peces jóvenes (Bell 1993; citado por Thiessen, 2004). Los productos hidrolíticos del glucosinolato pueden causar problemas en la calidad de la harina y pueden impactar negativamente en las funciones de la tiroides, hígado y riñones (Campbell y Schone 1998; Cheeke, 1998; Citado por Thiessen, 2004). Sin embargo gracias a la selección genética actualmente existen variedades de canola con bajos niveles en glucosinolato.

Diferentes estudios indican que el concentrado de proteína de Canola tiene valores nutritivos comparables a la harina de pescado, de tal manera que con esta proteína es posible suplir 59-71% de la proteína dietaria, sin afectar los principales indicadores productivos en salmones (Forster *et al.*, 1999; citado por Thiessen, 2004). La proteína de canola puede ser combinada con otras fuentes de proteína en la formulación de dietas de peces y camarones sin afectar su desempeño (Teskeredzic *et al.*, 1995; Lim *et al.*, 1997; Cruz-Suárez *et al.*, 2001; citado por Thiessen 2004).

Aunque existen varios estudios que revelan resultados positivos, como el de Mwachireya *et al.*, (1999), quienes desarrollaron un concentrado alto en proteína de harina de canola, donde el glucosinolato, fibra, y fitato fueron reducidos con el objetivo de remplazar la harina de pescado en dietas para la trucha arco iris *Oncorhynchus*

mykiss, existen otros como el de Burel *et al.*, (2000), quienes reportan que los salmones y las truchas, presentan diferencias altamente significativas en digestibilidad entre distintos lotes de harina de canola. Sin embargo, ambos autores reportan que no hubo efecto en el consumo, con inclusión de niveles hasta de un 50%.

La harina de canola ha sido también comúnmente usada en dietas para otras especies acuícolas como el bagre, la carpa, la tilapia y los camarones. Lim *et al.*, (1998) logró incluir en la dieta un 31% de harina de canola sin afectar el desempeño productivo del bagre. Higgs *et al.*, 1989; citado por Thiessen, (2004), determinó que la harina de canola puede ser efectivamente usada en un nivel de inclusión de un 10% en juveniles de tilapia, sin afectar la tasa de crecimiento, ni el factor de conversión alimenticia. En el caso de camarones Lim *et al.*, (1998), logró incluir un 15% de harina de canola, sin efectos negativos. Sin embargo, con niveles de inclusión de 30% y 45% se observó cierta disminución en la tasa de crecimiento y en el factor de conversión alimenticia.

En alimentos comerciales la harina de canola usualmente es incluida con una proporción de chícharo bisalto “field pea”. Esta combinación proporciona un alto perfil de aminoácidos (Davis *et al.*, 2002). La mezcla de harina de canola con la harina de chícharo no resulta eficiente en términos de proveer energía, pero son efectivas en términos de digestibilidad (Cruz-Suárez *et al.*, 2001; citado por King, 2004). Davis *et al.*, (2002), no encontró diferencias significativas en el crecimiento en *L. vannamei* cuando comparó la harina de canola con la harina de soya.

4.4 Digestibilidad

La medición de la digestibilidad aparente (AD), provee una estimación de la disponibilidad de los nutrientes en los ingredientes y alimentos. La digestibilidad

aparente (AD) puede ser medida gravimetricamente por la cálculo del consumo del alimento y la producción de heces fecales; ó indirectamente por la medición de la concentración de un marcador inerte en el alimento y en las heces (Smith y Tabrett 2004). La medición precisa de la cantidad de alimento consumido y la cantidad de heces producidas en animales acuáticos es muy complicada. Las técnicas a base de marcadores inertes se han sido muy utilizadas en los estudios de digestibilidad (Smith *et al.*, 1985; Shiau *et al.*, 1992; Lee y Lawrence, 1997; Jones y Desilva, 1998; Smith y Tabrett, 2004)

Mendoza, (1993) mencionan que cualquier compuesto de referencia se debe apegar a las siguientes exigencias:

1. totalmente indigestible, no absorbible
2. ninguna acción farmacológica en la zona gastrointestinal
3. pasar a través del intestino y ser evacuado a la misma tasa que otros contenidos del intestino
4. la cantidad de indicador ingerido y evacuado debe darse en periodos de tiempo iguales.
5. el indicador no debe cambiar el sabor del alimento para no afectar su atractabilidad
6. el indicador debe medirse fácilmente por métodos químicos

Aunque, el óxido de cromo es el marcador más ampliamente utilizado en los estudios de digestibilidad en camarones (tabla VI), varios autores han cuestionado su utilización. Leavitt, 1985; Smith y Tabrett (2004) consideran que no es válido el uso del óxido de cromo por que en sus estudios con langosta americana, obtuvieron una diferencia en la tasa de paso de la materia orgánica en el intestino. Brown *et al.*, (1986; citado por Smith y Tabrett, 2004) también reportaron que en adultos de *Procamarus clarkii*, el óxido de cromo ingerido pasa más rápidamente que la porción no digerida de la dieta y adicionalmente reporta una proporción más baja de ingesta de óxido de cromo que la que originalmente estaba en el alimento. Divakaran *et al.*, (2000) encontraron que la harina de soya influía en la tasa de paso del óxido de cromo a través del tracto digestivo

de *L. vannamei*, también reportaron valores de digestibilidad significativamente más altos con óxido de cromo al 1% que al 0,5%. Faucon, (1997) sugiere no utilizar el óxido de cromo como marcador inerte teniendo en cuenta el riesgo de explosión cuando este es manipulado en el laboratorio. Divakaran *et al.*, (2000) recomienda identificar otros marcadores diferentes al óxido de cromo en los estudios de digestibilidad en camarones.

Smith y Tabrett, (2004) recomiendan el uso del acetato de yterbio (ytterbium acetate) por que el ion yterbio tiene la particularidad de ligarse a las partículas de alimento, contrariamente al óxido de cromo que es insoluble en agua caliente y no tiende a ligarse a otras partículas. Hei-Zhao Lin *et al.*, (2005), utilizaron como marcador inerte el Y_2O_3 en dietas experimentales para *L. vannamei* y obtuvieron sin problemas la digestibilidad aparente (ADC) de la proteína, fósforo, lípidos, aminoácidos esenciales, aminoácidos no esenciales, ácidos grasos saturados y ácidos grasos poliinsaturados. En la tabla VII, se presenta un resumen de estudios de digestibilidad en camarones con marcadores inertes diferentes al óxido de cromo. Cuzon (comunicación personal, 2006) opina que es muy importante cuando se selecciona un marcador inerte tener en cuenta la sencillez de sus análisis y en el caso de utilizar el Y_2O_3 se requiere contar con un fotómetro de absorción atómica.

Faucon, (1997) utilizó el método de cenizas ácido insolubles (AIA) en estudios de digestibilidad en *L. stylirostris*. Este método tiene la particularidad de ser muy sencillo y no necesita el uso de equipos sofisticados. El IFREMER Tahiti, Polinesia Francesa ha trabajado con este método desde hace varios años y en la actualidad en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias de la UNAM, esta adaptando esta técnica para ser utilizada en estudios de digestibilidad de camarones y pulpos.

Tabla VI

Resumen de los estudios de digestibilidad en camarones, utilizando óxido de cromo como marcador inerte

Especie	Digestibilidad Aparente	Marcador	Concentración del marcador	Ingrediente/nutriente en estudio
<i>L. vannamei</i> ¹	ADC: materia seca, proteína, lípidos, carbohidratos, energía, energía digestible	Cr ₂ O ₃	0,5%	Harina de cangrejo <i>Pleuroncodes planiplis</i>
<i>Penaeus monodon</i> ²	ADC: materia seca, proteína, lípidos, energía	Cr ₂ O ₃	0,5 %	Lecitina de soya, aceite de pescado, aceite de girasol, aceite de maní, aceite de palma
<i>L. vannamei</i> ³	ADC: materia seca, proteína, energía	Cr ₂ O ₃	1% 0,5%	Harina de soya
<i>Penaeus monodon</i> ⁴	ADC: materia seca, proteína.	Cr ₂ O ₃	1%	Harina <i>Pisum sativum</i> .
<i>L. vannamei</i> ⁵	ADC: proteína.	Cr ₂ O ₃	1%	calamar seco por calor, hidrolizado de pescado
<i>L. vannamei</i> ⁶		Cr ₂ O ₃	0,5%	Harina de hueso y harina de desechos pollos
<i>L. stylirostris</i> ⁷	ADC: materia seca, proteína.	Cr ₂ O ₃	1%	Diferentes procesos de harina de chícharo y harina de canola
<i>L. vannamei</i> ⁸	ADC: materia seca, energía.	Cr ₂ O ₃	0,5%	Trigo, harina de maíz, harina de arroz, sorgo
<i>L. vannamei</i> ⁹	ADC: proteína, carbohidratos, lípidos	Cr ₂ O ₃	0,5%	Almidón de maíz, almidón maíz alto en amilasa, almidón de papa, almidón de trigo
<i>Penaeus monodon</i> ¹⁰	ADC: materia seca, proteína.	Cr ₂ O ₃	0,5%	<i>Lupin albus</i> , <i>Lupin angustifolius</i> , descascarado, concentrado de proteína, y harina de semilla

¹Goytortúa *et al.*, (2006), ²Kumaraguru *et al.*, (2005), ³ Divakaran *et al.*, (2000), ⁴Bautista *et al.*, (2003), ⁵Córdova y García (2001), ⁶ Forster *et al.*, (2003), ⁷ Cruz-Suárez *et al.*, (2001), ⁸ Davis y Arnold (1995), ⁹ Cousin *et al* (1996), ¹⁰ Sudaryono *et al.*, (1999)

Tabla VII

Resumen de los recientes estudios de digestibilidad en camarones, utilizando otros marcadores inertes diferentes al óxido de cromo

Espece	Aparente digestibilidad	Marcador	Concentración del marcador	Ingrediente/nutriente en estudio
<i>L. stylirostris</i> ¹	ADC: materia seca, proteína, energía	Zeolita	3%	Alimentos para juveniles
<i>Penaeus monodon</i> ²	ADC: ácidos grasos esenciales, lípidos Neutros	α - colestano	0,3%	Estudio de de requerimientos
<i>Penaeus monodon</i> ³	ADC: materia seca, proteína.	Cr ₂ O ₃ YB Dióxido de Titanio	0,5 g/kg- ¹ (m.seca) 0,2g/kg-1(m.seca) 0,5 g/kg-1	Marcadores inertes
<i>L. vannamei</i> ⁴	ADC:materia seca, proteína, fósforo, lípidos, EAA, NEAA, ácidos grasos	Y ₂ O ₃	0,01%	-Probiótico (<i>Bacillus sp</i>)
<i>L. vannamei</i> ⁵	ADC: proteína, fósforo, lípidos, EAA, NEAA, ácidos grasos saturados, ácidos grasos poliinsaturados	Y ₂ O ₃	0,01%	Compuestos de la medicina tradicional china

¹ Faucon (1997), ² Glencross *et al.*, (2003), ³ Smith y Tabrett (2004), ⁴ Hei-zhao *et a.,l* (2004), ⁵.Hei-zhao *et al.*, (2005)

5. MÉTODO

Con el propósito de proporcionar una mayor claridad de las diferentes etapas de la investigación, el presente estudio se divide en tres fases.

Fase 1. Digestibilidad y balance energético

Fase 2. Reemplazo de la harina de pescado. Experimento de niveles de inclusión

Fase 3. Evaluación del crecimiento de familias de *L. vannamei* alimentados con una dieta sin harina de pescado con altos niveles de harinas vegetales

A continuación se presenta el diseño y pruebas estadísticas usadas en los diferentes experimentos.

Experimento	Tipo de diseño y estadística	Repetición/tratamiento	Factores a evaluar	Respuestas evaluadas
Fase 1. Digestibilidad	Completamente aleatorizado. Anova. Comparación múltiple de medias. Comparaciones post hoc.	4	Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de soya (SBM)	-ADC materia seca
			Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de chícharo (FPM)	-ADC proteína
			Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de canola (CM)	-ADC energía
Fase 1. Balance energético	Estadística descriptiva. Promedios.	6	Control: dieta referencia (FM)	
			Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de soya (SBM)	Energía ingerida (IE)
			Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de chícharo (FPM)	Energía digestible (ED)
			Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de canola (CM)	Energía branquial (UE+ZE)
Fase 2. Niveles de inclusión óptimos de la proteína vegetal seleccionadas	Completamente aleatorizado. Anova. Bloques Anidado. Comparaciones	4	Control: dieta referencia (FM)	Incremento de calor (HiE)
			Dieta 1: 0% inclusión harina de pescado (0% HP)	Energía basal (HeE)
			Dieta 2: 6% inclusión harina de pescado (6% HP)	Energía de crecimiento (RE).
				Respuestas Poblacionales Tasa de supervivencia (%) Porcentaje de ganancia en peso individual (%) Respuesta nutricional:

	post hoc		Dieta 3: 10% inclusión harina de pescado (10% HP)	Tasa específica de crecimiento
			Dieta 4: 15% inclusión harina de pescado (15% HP)	Consumo individual
			Dieta 5: Dieta comercial	Factor de conversión alimenticia (FCA)
				Tasa de eficiencia proteica (PER)
				Eficiencia alimenticia (FE)
Fase 3. Evaluación del crecimiento de 55 familias	Modelo lineal general (GLM). Fuentes de variación: dieta, familia, sexo y la interacción familia x dieta. Coeficiente de correlación de Pearson y de Spearman.	2 repeticiones de 55 familias por tratamiento.	Dieta 1: 0% inclusión harina de pescado (0% HP)	Tasa sobrevivencia (%)
			Dieta 2: 30% inclusión harina de pescado (30% HP)	Peso de cosecha (g)

5.1 Fase 1. Digestibilidad y balance energético

5.1.1 Adquisición de los ingredientes y análisis bromatológico

- Adquisición de los ingredientes.

Las harinas vegetales seleccionadas fueron:

Harina de soya (*Glycine max*)

Harina de chícharo (*Pisum sativum*)

Harina de canola (*Brassica sp*)

- Análisis de los ingredientes

A las harinas vegetales se les realizó un análisis bromatológico detallado con el propósito de verificar la calidad y tener los valores de los principales nutrientes para la posterior formulación. Para verificar la calidad de las harinas vegetales se llevó a cabo

un análisis de factores antinutricionales. Esta actividad se realizó en laboratorios especializados.

Los niveles de proteína fueron calculados por la determinación de Nitrógeno total protocolo LECO auto-analyser, basados en Nx6.25. (A.O.C.S, No. Aa 5-91).

El contenido de grasa cruda fue determinado por el método gravimétrico seguido por la extracción de lípidos de acuerdo con el método Soxhlet (A.O.A.C, No. 920.39).

Las concentraciones de aminoácidos fueron determinadas con el analizador automático de AA (A.O.A.C., 2000, No.988.15).

La energía gruesa o energía neta fue determinada en una bomba calorimétrica (A.S.T.M D 5865-04).

El procedimiento para la determinación de humedad, la fibra cruda y cenizas fue (A.O.A.C, No. 934.01), (A.O.A.C, No. 962.09) y (A.O.A.C, No. 942.05) respectivamente.

Factores Antinutricionales:

Sinapine

Inhibidor de Tripsina

Saponinas

Lectinas

Acido Fítico

Taninos

Glucosinolatos

5.1.2 Formulación y fabricación de las dietas

Para la formulación se utilizó el software Nutrion[®]. Se diseñó una dieta de referencia elaborada con harina de pescado y tres dietas experimentales formuladas cada una con una fuente de proteína vegetal, con características nutricionales adecuadas. Se tuvieron muy en cuenta el aporte de aminoácidos esenciales de las proteínas seleccionadas. Las dietas experimentales contienen 70% de la dieta referencia y un 30% de la proteína vegetal a evaluar. Dos por ciento de zeolita[®] fueron incluidos en las dietas experimentales como marcador inerte.

Las dietas usadas en este estudio fueron fabricadas en la planta piloto de NICOVITA[®] Perú. Las dietas fueron preparadas en una mezcladora durante 10 minutos para las harinas e ingredientes secos y 10 minutos adicionales para la adición de los ingredientes líquidos. Los ingredientes fueron mezclados y peletizados a una temperatura constante de $90\pm 2^{\circ}\text{C}$, las partículas pasaron por un molde de 2.5x3mm. Posteriormente los pellets fueron secados a una temperatura constante de 73°C durante 45 minutos. A los alimentos terminados se les realizaron las pruebas respectivas de

control y de calidad, para posteriormente empacarlos y almacenarlos en un cuarto con temperatura controlada.

5.1.3 Análisis de las dietas

Los niveles de proteína, grasa, aminoácidos, energía, humedad, fibra y cenizas se hicieron en laboratorios especializados, utilizando las mismas técnicas descritas en el numeral 5.1.1 Análisis de los ingredientes.

Para determinar el contenido de zeolita (AIA) en heces y en alimento se usó el método descrito por Atkinson et al. (1984). El método para determinar la pérdida de material seca en 1 h fue el descrito por Aquacop (1978).

Pérdida de materia seca (lixiviación):

$$\%PMS = [(peso\ del\ alimento\ en\ base\ seca\ antes\ de\ lixiviar - peso\ del\ alimento\ en\ base\ seca\ después\ de\ lixiviar) / Peso\ del\ alimento\ en\ base\ seca\ antes\ de\ lixiviar] * 100$$

5.1.4 Análisis sanitarios de los camarones

Los camarones usados en los diferentes bioensayos se les realizó un monitoreo sanitario completo con el propósito de asegurar que no presentaban ninguna enfermedad. Los análisis de histopatología, microbiología, y biología molecular fueron realizados durante y al finalizar los bioensayos para garantizar la sanidad de los camarones.

5.1.5 Bioensayo de crecimiento

- Obtención de los animales

Los camarones *L. vannamei*, utilizados fueron obtenidos en el Centro de Investigaciones de la Acuicultura de Colombia, CENIACUA, ubicada en el corregimiento de Punta canoa, Cartagena (Bolívar). La semilla proviene del programa de mejoramiento familiar. Esta línea es el resultado de ocho años de selección combinada entre familias e individuos.

Los camarones fueron obtenidos de un estanque comercial de CENIACUA y pesados individualmente con una balanza digital (precisión de 0.1g). Posteriormente, los juveniles fueron sembrados en 16 tanques circulares de fibra de vidrio con una capacidad de 500 L. Todos los tanques se cubrieron con una malla y plástico negro, con el fin de evitar la proliferación de fito y zooplancton. Al cuarto día después de la siembra, se repuso la mortalidad causada por el manejo y el estrés producido por la manipulación de los animales.

- Diseño Experimental

El diseño de esta prueba de crecimiento fue completamente aleatorio, con cuatro tratamientos y cuatro réplicas. Tres tratamientos correspondieron a las dietas experimentales y un cuarto tratamiento a la dieta control

Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de soya (SBM)

Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de chícharo (FPM)

Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de canola (CM)

Control: dieta referencia (FM)

Los animales fueron seleccionados con un peso promedio de 3.1 ± 0.2 g. Para constatar la ausencia de diferencia en peso se hizo un ANOVA y posteriormente se distribuyeron en 16 tanques circulares de fibra de vidrio. Se realizó un recambio diario del 90%. En cada tanque se sembraron 65 animales (32 camarones/m^2), teniendo cuidado que cada replica tuviera la misma distribución de talla (distribución normal).

Los juveniles fueron alimentados "*ad libitum*" tres veces al día, en bandejas especialmente diseñadas para esta labor. Los restos de alimento se recolectaban cada mañana y se filtraban en una malla de $500 \mu\text{m}$ con el propósito de separar heces y otros residuos. Posteriormente, el alimento sobrante se enjuagó con agua destilada y se recolectó en crisoles previamente pesados que fueron llevados a un horno a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 18 horas. Durante los 56 días del experimento, se llevó un registró de las sobras de alimento en base seca de cada una de las réplicas.

El monitoreo de parámetros físico químicos se realizó dos veces al día. En las horas de la mañana antes del recambio de agua 08:30H y otra en horas de la tarde con la segunda alimentación 16:00H. El registró de la mortalidad y la alimentación se realizó tres veces al día, en el siguiente horario, 9:00H primera alimentación, 16:00H segunda alimentación y 22:00H tercera alimentación.

Las variables evaluadas durante el experimento fueron:

1) Tasa de sobrevivencia:

Tasa de sobrevivencia = (Número final / Número inicial) X 100.

2) Porcentaje de ganancia en peso individual (%):

% Ganancia en peso individual = [(peso individual promedio final - peso individual promedio inicial) / peso individual promedio inicial] X 100.

Esta variable se calcula para cada tanque a partir del peso promedio inicial y del peso promedio final.

3) Crecimiento semanal:

Crecimiento semanal = [(Peso final promedio - Peso inicial promedio)] / # semanas

4) Tasa específica de crecimiento (SGR por sus siglas en inglés *Specific Growth Rate*):

SGR = 100 * (ln peso promedio final - ln peso promedio inicial) / número de días de ensayo

5) Consumo: Para cada tanque el consumo reportado fue la suma del consumo individual diario estimado a lo largo de los días de bioensayo.

Consumo individual = \sum 1 día (consumo en el tanque al día i / número de camarones al día i)

6) Factor de conversión alimenticia (FCA): = consumo alimento en cada réplica / ganancia en peso.

7) Tasa de eficiencia proteica (PER): es el incremento en peso con respecto a la proteína consumida.

Esta variable será calculada para cada tanque a partir del peso promedio inicial y del peso promedio final por gramos de proteína consumida.

$$PER = (\text{peso promedio final en cada tanque} - \text{peso promedio inicial en cada tanque}) / (\text{consumo por tanque} * \text{concentración proteica en el alimento})$$

8) Utilización proteica neta (NPU): es el depósito de proteína por camarón con respecto a la proteína ingerida.

$$NPU = [(\text{peso promedio final} * \text{proteína en carcas al final}) - (\text{peso promedio inicial} * \text{proteína en carcas al inicio})] / \text{proteína consumida}$$

- Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados con un modelo general lineal, donde el efecto tanque fue anidado al alimento. Todos los análisis fueron realizados el por **Software** de análisis estadísticos SAS® 2004. Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos a un nivel de $p < 0,05$.

5.1.6 Bioensayo de digestibilidad

- Obtención de los animales.

Los animales utilizados en este bioensayo igualmente provinieron de CENIACUA. Después de capturados se registró el peso individual con una balanza de resorte marca Pesola® con una precisión de 0.1g.

Los tanques del bioensayo contaban con las mismas características de los tanques utilizados para el Bioensayo anterior.

- Diseño experimental.

El diseño completamente aleatorio de este experimento de digestibilidad se realizó con cuatro tratamientos y cuatro réplicas. Tres tratamientos correspondían a las dietas experimentales y un cuarto tratamiento a la dieta referencia.

Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de soya (SBM) + zeolita

Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de chícharo (FPM) + zeolita

Alimento 70% dieta referencia, 30% harina de canola (CM) + zeolita

Referencia: dieta referencia (FM) + zeolita

La metodología utilizada en este estudio de digestibilidad fue la de cenizas ácido insolubles (AIA) descrita por Atkinson *et al.*, (1984).

Para cada una de las réplicas, se sembraron 33 animales con un peso promedio de 11.4 ± 0.8 g. Los camarones fueron alimentados con las dietas experimentales durante 10 días antes de iniciar la recolección de heces. La metodología esta basada principalmente en los estudios de Cousin, (1996) y Faucon, (1997). Todos los días se realizó un recambio de agua tratada del 90%, sifoneando los tanques, retirando las mudas, heces y eventual mortalidad producida durante la noche.

- Alimentación y recolección de heces

La alimentación se realizó tres veces al día "*ad libitum*", con el siguiente horario 8:00H, 12:00H y 21:00H. La recolección de heces se realizó dos veces al día, tres horas después de las dos primeras alimentaciones, respectivamente.

El procedimiento se iniciaba con la identificación de las heces a sifonear seleccionando solamente aquellas que estuvieran completas. Posteriormente, las heces seleccionadas, eran

limpiadas y enjuagadas con agua destilada. Después del proceso anterior las heces eran llevadas al horno para ser secadas a una temperatura constante de 60 °C. La recolección de heces finalizó al alcanzar los 15 gramos de heces en materia seca de cada uno de los tratamientos.

La determinación de zeolita en alimento y heces se hizo siguiendo el método AIA (Atkinson et al., 1984)

- Determinación de coeficiente de digestibilidad aparente CDA (ADC):

$$\text{ADC materia seca} = 100 - (\% \text{zeolita en el alimento} / \% \text{zeolita en heces}) \times 100$$

$$\text{ADC proteína} = 100 - 100 (\% \text{zeolita en el alimento} / \% \text{zeolita en heces}) \times (\% \text{proteína en heces} / \% \text{proteína en alimento})$$

$$\text{ADC energía} = 100 - 100 (\% \text{zeolita en el alimento} / \% \text{zeolita en heces}) \times (\% \text{energía en heces} / \% \text{energía en alimento})$$

Para calcular el ADC de los ingredientes, la siguiente fórmula fue propuesta

$$\text{ADC}_{\text{ingrediente}} = (\text{ADC}_{\text{test}} - \text{ADC}_{\text{ref. dieta}} \times 0.7) / 0.3$$

- Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados estadísticamente usando análisis de varianza de una sola vía seguido por una comparación múltiple de medias por el método de Duncan a una probabilidad de 0.05. Los análisis fueron realizados con el **Software SAS**[®] 2004.

5.1.7 Bioensayo de respirometría: modelo balance energético

- Obtención de los animales.

Postlarvas de *L. vannamei* con un peso promedio de 6mg fueron obtenidas del laboratorio de larvicultura de CENIACUA. Las postlarvas fueron aclimatadas a las nuevas dietas durante 57 días hasta un peso promedio de 5.79 ± 0.44 g

Las dietas utilizadas en el periodo de aclimatación fueron:

Dieta 1: 70% dieta referencia, 30% harina de soya

Dieta 2: 70% dieta referencia, 30% harina de chícharo

Dieta 3: 70% dieta referencia, 30% harina de canola

Dieta Control

- Consumo de oxígeno

El consumo de oxígeno se hizo con el protocolo desarrollado por la Unidad de Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias UNAM. Los camarones fueron colocados en cámaras acrílicas transparentes de 0.5L de capacidad 12 h antes de realizar las mediciones y se mantuvieron en ayuno. En cada corrida experimental se colocaron 9 camarones, uno por cámara y tres cámaras sin animal, representando el control. La concentración de oxígeno disuelto en las cámaras fue monitoreada cada hora, durante un período de 8 h. El consumo de oxígeno por animal fue obtenido de forma indirecta utilizando la resta de las concentraciones del agua de mar que entraba (en la cámara usada como control) menos la concentración del agua que salía de la cámara respirométrica que contenía el animal multiplicada por el flujo. Esto se hizo para cada una de las cámaras obteniendo así el valor específico para cada organismo. El consumo de oxígeno se calculó con la siguiente formula:

$$VO_2 = ((O_2)_{\text{control}} - (O_2)_{\text{cámara}}) * F$$

Donde:

(O₂) control = Concentración de oxígeno en la cámara respirométrica vacía

(O₂) cámara = Concentración de oxígeno en la cámara respirométrica con camarón

F= flujo 1mL/seg.

Una vez obtenida la primera muestra de consumo de oxígeno correspondiente al ayuno, los camarones se alimentaron según el tratamiento dietario. Se registró el peso del alimento en una balanza analítica. Aquellos animales que mudaron durante la respirometría no fueron tenidos en cuenta

Incremento de calor producto del alimento (HiE)

El valor de HiE producto del alimento se obtuvo tomando el valor del consumo de oxígeno después de la tercera hora de iniciado el bioensayo de los organismos, menos el valor de consumo en condición de ayuno. El coeficiente oxicalórico utilizado fue de $13.6 \text{ kJ g}^{-1} \text{ O}_2$ (Cho and Bureau, 1998).

Excreción nitrogenada (UE+ZE)

Los valores de (UE+ZE) fueron estimados en base en la ecuación de Cho and Bureau (1998) que corresponde al 0.9% de la sumatoria de la energía retenida en la carcasa (RE) + incremento calórico (HiE) + energía basal (HeE). $UE+ZE=(RE+HeE+HiE)*0.09$

- Balance energético

Para el balance energético se utilizó la nomenclatura propuesta por el U.S. National Research Council (NRC, 1981). Las respuestas evaluadas durante el bioensayo fueron: energía ingerida (IE), energía digestible (ED), energía branquial (UE+ZE), el incremento de calor (HiE), la energía basal (HeE) y de manera indirecta a través de completar el modelo por despeje de variables la energía de crecimiento (RE).

5.2 Fase 2. Niveles de inclusión óptimos de la proteína vegetal seleccionadas

5.2.1 Análisis bromatológicos de los ingredientes

Basados en los resultados de digestibilidad, balance energético y perfil nutricional, las harinas vegetales seleccionadas para el estudio de niveles de inclusión fueron:

Harina de soya (*Glycine max*)

Harina de canola (*Brassica sp*)

A las harinas vegetales se les realizó un detallado análisis bromatológico con el propósito de verificar la calidad y obtener los valores de los nutrientes principales para la posterior formulación. Esta actividad se hizo en laboratorios especializados.

5.2.2 Formulación y fabricación de las dietas

Para la formulación se utilizó el software Nutrion[®]. Se tuvo en cuenta el aporte de aminoácidos esenciales de las proteínas seleccionadas. Las cinco dietas experimentales tuvieron diferentes niveles de inclusión de harina de pescado (0%, 6%, 10% y 15% HP)

Las dietas usadas en este estudio fueron fabricadas en la planta piloto de NICOVITA[®] Perú, utilizando el mismo protocolo descrito en el numeral 5.1.2

5.2.3 Análisis de las dietas

Los niveles de proteína, grasa, humedad, fibra y cenizas se hicieron en laboratorios especializados, utilizando las mismas técnicas descritas en el numeral 5.1.3 análisis de los ingredientes.

El método para determinar la pérdida de material seca en 1 h fue el descrito por Aquacop (1978).

Pérdida de materia seca (lixiviación):

$\%PMS = [(\text{peso del alimento en base seca antes de lixiviar} - \text{peso del alimento en base seca después de lixiviar}) / \text{Peso del alimento en base seca antes de lixiviar}] * 10$

5.2.4 Diseño experimental

- Obtención de los animales

La semilla fue obtenida del programa de mejoramiento familiar del Centro de Investigaciones de la Acuicultura de Colombia, CENIACUA. Las larvas fueron sembradas en tanques circulares de fibra de vidrio con una capacidad de 500 L. Todos los tanques se cubrieron con una malla y plástico negro, con el fin de evitar la proliferación de fito y zooplancton. Al séptimo día después de la siembra, se repuso la mortalidad causada por el manejo y el estrés producido por la manipulación de los animales.

- Diseño Experimental

El diseño del experimento fue completamente aleatorio, con seis tratamientos y cuatro réplicas. Cuatro tratamientos correspondieron a las dietas experimentales y un quinto tratamiento a la dieta comercial

Dieta 1: 0% inclusión harina de pescado (0% HP)

Dieta 2: 6% inclusión harina de pescado (6% HP)

Dieta 3: 10% inclusión harina de pescado (10% HP)

Dieta 4: 15% inclusión harina de pescado (15% HP)

Dieta 5: Dieta comercial

Los animales seleccionados tuvieron un peso promedio de 0.3 ± 0.1 g. Se distribuyeron en 20 tanques circulares de fibra de vidrio y en estos se realizó un

recambio diario del 90%. En cada tanque se sembraron 100 larvas (50 camarones/m²), teniendo cuidado que cada replica tuviera la misma distribución de talla (distribución normal).

Los camarones fueron alimentados “*ad libitum*” cuatro veces al día. Los restos de alimento se recolectaban cada mañana y se filtraban en una malla de 500 µm con el propósito de separar heces y otros residuos. Posteriormente, el alimento sobrante se enjuagó con agua destilada y se recolectó en crisoles previamente pesados que fueron llevados a un horno a 80 °C por 20 h. Durante los 95 días del experimento, se llevó un registro de las sobras de alimento en base seca de cada uno de las réplicas.

El monitoreo de parámetros físico químicos se realizó dos veces al día. En las horas de la mañana antes del recambio de agua 08:15h y otra en horas de la tarde con la segunda alimentación 15:00h. El registro de la mortalidad y la alimentación se realizó cuatro veces al día, en el siguiente horario, 10:00h primera alimentación, 15:00h segunda alimentación, 22:00h la tercera alimentación y una cuarta alimentación a las 04:00h, del siguiente día.

5.2.5 Experimento tasa de tránsito

Se hizo un experimento para verificar el tiempo de tránsito de las dietas experimentales desde el momento del consumo hasta la evacuación de las heces. Las seis dietas fueron molidas con un molino de cocina y posteriormente pasadas por un juego de tamices (®USA Standard Testing). Posteriormente cada una de las dietas fueron mezcladas en una batidora por un tiempo de 10 minutos, adicionándole muy lentamente un colorante de color rojo (®Radian Magruder Color, Magenta MS-M63018) con el objetivo de teñir el alimento y diferenciar muy bien las heces en el momento que emergen del tracto digestivo. Por cada 100 g de mezcla se uso 0.149 g de colorante. La nueva mezcla se paso a través de una peletizadora semi industrial marca Javer® modelo M321. Los alimentos fueron secados en un horno a 30°C durante 18 horas.

Para evaluar la tasa de tránsito se utilizaron 8 tanques circulares de fibra de vidrio con una capacidad de 100 L cada uno. Para asegurar que la evacuación completa de las heces los animales fueron sometidos a un ayuno de 48 horas. Diariamente se evaluó una dieta con ocho réplicas. Los animales usados tuvieron un peso promedio de 14 ± 2.8 g. Cada una de las réplicas se alimentaron con un gramo de la dieta. La tasa de tránsito se evaluó a nivel individual y el tiempo fue medido con un cronómetro desde el momento en que el animal inició el consumo hasta el momento en que se observó la excreción de las heces teñidas de rojo.

5.2.6 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con un modelo general lineal, donde el efecto tanque fue anidado al alimento. Todos los análisis fueron realizados con el **Software** de análisis estadísticos SAS® 2004. Para el análisis estadístico del ensayo de tasa de tránsito se usó un diseño completamente aleatorizado. ANOVA (Duncan's test) Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos a un nivel de $p < 0.05$.

5.3 Fase 3. Evaluación del crecimiento de familias de *L. vannamei* alimentadas con una dieta a base de proteína vegetal

5.3.1. Producción de las familias

Se produjeron 55 familias de hermanos enteros y/o 25 familias de hermanos medios. Los reproductores provinieron de los lotes 17 y 18, del programa de mejoramiento genético de CENIACUA, correspondientes a la cuarta y quinta generación de selección F4-F5. Para la producción de familias de hermanos enteros y medios hermanos, dos hembras maduras fueron artificialmente inseminadas. Cada hembra inseminada fue

colocada en un tanque de desove individual. Después de 4 h, los huevos ovopositados por cada hembra fueron colectados en tanques de 9-L para su lavado. Los huevos eclosionaron después de 8 h y 30.000 nauplios de cada una de las familias fueron tomados al azar y sembrados en tanques separados de larvicultura de 250-L. Las larvas fueron alimentadas con una mezcla de *Chaetoceros sp.*, *Artemia sp* y micropellets. En el estadio de PL10 a PL15 se ajustó la densidad a 100 postlarvas por familia y se alimentaron a saciedad con seis raciones diarias. Cuando las postlarvas alcanzaron un peso promedio de 2 ± 0.5 g se tomó una muestra aleatoria de 36 animales de cada familia y fueron marcados con elastómero fluorescentes en el quinto segmento abdominal próximo al telson, utilizando una combinación de colores única para cada familia (Godin *et al.*, 1996; Gitterle *et al.*, 2005). También se tomaron 5 animales de cada familia sin marcar y se les extrajeron dos pares de pleópodos a los cuales se les hizo análisis de PCR para Taura, mancha blanca (WSV), espiroplasma y NHP con la finalidad de establecer que las familias estaban libres de estas enfermedades. Estos análisis se realizaron en el laboratorio de biología molecular de CENIACUA.

5.3.2 Evaluación familias con las dietas experimentales

Se sembraron entre 13 y 18 animales de cada una de las 55 familias en 2 tanques de fibra circulares de 8 m de diámetro y 1.4 m de altura, con un volumen operativo de 40 m³. Para el suministro de aire, se utilizó un sistema de *air-lifts* distribuido en cuatro puntos del tanque. Los dos tanques se recubrieron con un plástico negro de alta densidad, para evitar el crecimiento de algas. Se manejaron recambios diarios del 100%. En un tanque las familias se alimentaron con la dieta experimental de 0% de harina de pescado (0% HP) y en otro con la dieta referencia de 30% de harina de pescado (30% HP). Las densidades de siembra fueron de 17.7 y 17.2 camarones.m⁻², para 0% y 30% de harina de pescado, respectivamente.

Se alimentaron “*ad libitum*” 6 veces al día cada 4 horas iniciando a las 2:00 AM. El tiempo del experimento fue 107 días post-siembra en los tanques. Diariamente se

registró el consumo de alimento por animal a evaluando el alimento sobrante recolectado. El consumo fue ajustado por las pérdidas debidas a la lixiviación de la materia seca.

Diariamente se registró la temperatura en °C, la salinidad y el oxígeno disuelto en mg.l⁻¹.

5.3.3 Análisis estadístico

Para el análisis de lixiviación y tasa de tránsito de las dietas, se uso un diseño completamente aleatorizado. ANOVA y una prueba de Duncan para separación de medias. Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos a un nivel de $p < 0.05$.

Para determinar las fuentes de variación que influyen en el peso de cosecha se elaboró un modelo lineal general (GLM). Las fuentes de variación que se incluyeron en el análisis fueron: dieta, familia, sexo y la interacción familia x dieta.

Todos los análisis fueron realizados con el Software SAS® 2004. Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos a un nivel de $p < 0.05$.

Adicionalmente se correlacionaron las medias familiares del peso de cosecha de las dos dietas tanto por el coeficiente de correlación de Pearson como por el de Spearman con el propósito de determinar el orden en la posición ocupada de las medias familiares. El análisis se hizo con el **Software SAS® 2004**.

6. RESULTADOS

6.1 Fase 1. Digestibilidad y balance energético

6.1.1 Análisis bromatológico y de calidad de los ingredientes

En la tabla VIII, se presentan los análisis bromatológicos de las tres harinas vegetales seleccionadas en este estudio.

Tabla VIII

Composición proximal de las harinas vegetales (%)

	Soya	Canola	Chícharo
humedad	8.26	9.12	8.85
proteína(Nx6,25)	46.9	38.9	24
grasa	3.45	5.92	1.02
fibra Cruda	3.35	8.31	1.51
Cenizas	6.68	8.16	2.69
Energía (kJ/g)	18.6	18.8	18.4
carbohidratos ¹	31.3	29.6	61.9
Lisina	2.71	2.26	1.50
Arginina	3.57	2.11	2.02
Histidina	1.26	1.09	0.70
Treonina	1.86	1.63	1.0
Leucina	3.7	2.5	1.8
Isoleucina	2.3	1.48	1.08
Valina	2.49	1.81	1.40
Metionina	0.68	0.79	0.32
Fenilalanina	2.38	1.53	1.41
Triptofano	0.66	0.48	0.25

¹ Carbohidratos (Por diferencia)

En la tabla IX se presenta el resultado de los análisis de factores antinutricionales de la harina de soya, chícharo y canola. Todos los antinutricionales evaluados se encuentran dentro de los rangos máximos permitidos.

Tabla IX

Factores antinutricionales en las harinas vegetales

Antinutricional	Valores máximos permitidos	Soya	Canola	Chícharo
Sinapine (%)	1.0 ^a		0.89	
Inhibidor Tripsina (mg/g)	5.0 ^b	3.10		2.15
Saponinas (%)	0.6 ^b	0.51		
Lectinas (µg/g)	10 ^b	0.38		
Acido Fítico (%)	4.0 ^a		3.95	3.23
Taninos (%)	1.5 ^a		1.10	0.17
Glucosinolato (µmoles/g)	16 ^a		14.6	

a. Consejo Canadiense de Canola

b. Sociedad Americana de Soya

6.1.2 Formulación

En la tabla X se presenta la formulación detallada de las dietas experimentales. Las dietas fueron formuladas para contener 70% de la dieta referencia y 30% de la proteína vegetal a evaluar.

Tabla X

Composición de las dietas experimentales (% del alimento)

	Control	Dieta Soya	Dieta Chícharo	Dieta Canola
harina de pescado ¹	33	23.1	23.1	23.1
harina de calamar	3.0	2.1	2.1	2.1
harina de soya	17	11.9	11.9	11.9
gluten trigo ²	12	8.4	8.4	8.4
harina de trigo	26.2	17.7	17.7	17.7
aceite pescado	4	2.8	2.8	2.8
lecitina de soya	2	1.4	1.4	1.4
Colesterol	0.5	0.35	0.35	0.35
Premezcla de vitaminas y minerales ³	0.25	0.25	0.25	0.25
zeolita ⁴	2	2	2	2
harina de soya		30		
harina de chícharo			30	
harina de canola				30
Total	100	100	100	100

¹ Harina de pescado peruana

² Gluten de trigo (Flour& Starch Union)

³ Vitaminas y minerales (IU/kg or g/kg o mg/kg de premezcla): Vit. A, 10000 IU/g; B1, 30 mg/kg; B2, 15 mg/kg; DL Ca pantotenato, 50 mg/kg; B6, 35 mg/kg; B12, 40 mcg/kg; Ascórbico, 150 mg/kg; K3, 3 mg/kg; D3,3500 IU/g; E, 150 IU/g ; niacina, 100 mg/kg; ácido fólico, 4 mg/kg; biotina, 1000 mcg/kg; Mn, 40 mg/kg; Zn, 40 mg/kg; Cu, 25 mg/kg; Fe, 100 mg/kg; Se, 0.3 mg/kg; I, 0.35 mg/kg.

⁴ Zeolita. Acid washed standard super-cel [®]NF. Celite corporation, Lompoc, CA, USA.

En la tabla XI se presentan los resultados de los análisis bromatológicos de las dietas experimentales. Se verificó que las cuatro dietas cumplieran con los requerimientos nutricionales para *L. vannamei*. Sin embargo las dietas no son isoproteicas debido a la estrategia de formulación (70% dieta referencia-30% ingrediente a evaluar).

Tabla XI

Composición proximal de las dietas experimentales (% del alimento)

	Control	Dieta Soya	Dieta Chícharo	Dieta Canola
Humedad	8.43 ^c	7.46 ^{ab}	6.82 ^a	7.75 ^{bc}
	± 0.32	± 0.12	± 0.56	± 0.28
proteína(Nx6,25)	43 ^a	45 ^a	39 ^b	44 ^a
	± 2.16	± 2.0	± 1.8	± 1.0
Grasa	10 ^d	8.0 ^b	7.0 ^a	9 ^c

	± 0.25	± 0.17	± 0.15	± 0.16
Fibra cruda	3.0 ^a	1.0 ^b	1.0 ^b	3.0 ^a
	± 0.16	± 0.1	± 0.17	± 0.15
Cenizas	9.0 ^a	9.0 ^a	8.0 ^a	9.0 ^a
	± 0.31	± 0.5	± 0.9	± 0.86
energía (kJ/g)	20 ^{ab}	22 ^b	19 ^{ab}	18 ^a
	± 1.12	± 2.27	± 1.48	± 1.91
22: 6n3	0.6	0.4	0.4	0.4
20: 5n3	0.6	0.4	0.4	0.4
18: 2n-6	2.4	2.4	2.1	2.2
18: 3n-3	0.3	0.3	0.2	0.4
Lisina	2.65	2.71	2.69	2.92
Arginina	2.09	2.18	2.31	2.34
Histidina	1.01	1.03	1.03	1.14
Treonina	1.53	1.57	1.55	1.74
Leucina	2.91	2.98	2.87	3.09
Isoleucina	1.80	1.85	1.78	1.90
Valina	2.14	2.19	2.15	2.28
Metionina	0.99	1.00	0.92	1.06
Fenilalanina	1.63	1.67	1.69	1.72
Triptofano	0.46	0.47	0.44	0.51
% pérdida materia seca ¹	10.0 ^a	11.9 ^c	10.3 ^a	11.5 ^b
	± 0.21	± 0.2	± 0.26	± 0.37

¹ Estabilidad de las dietas en agua de mar 1h-inmersión (Aquacop 1978).

La media corresponde a cuatro réplicas ±S.D. Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05).

6.1.3 Bioensayo crecimiento

Durante los 56 días de bioensayo se llevó un registró diario de los diferentes parámetros físico químicos los cuales se presentan en la tabla XII. Los parámetros físico químicos estuvieron dentro de los rangos óptimos para la especie *L. vannamei* y se refleja en los resultados obtenidos durante el periodo experimental.

Tabla XII

Parámetros físico-químicos bioensayo de crecimiento

Temperatura °C	Salinidad ‰	Oxígeno mg/L	pH
Min. 26.3	Min. 27	Min. 4.6	Min. 6.95
Máx. 31.8	Máx. 33	Máx. 6.9	Máx. 8.12
Prom. 29.2 ± 0.97	Prom. 30 ± 3	Prom. 5.9 ± 0.65	Prom. 7.65 ± 0.23

Los diferentes parámetros productivos evaluados en el bioensayo de crecimiento se encuentran en la tabla XIII.

Tabla XIII

Resultados del experimento de crecimiento. 56 días (media de cuatro réplicas ± desviación estándar)

Dieta	Dieta: Soya	Dieta: Chícharo	Dieta: Canola	Dieta Control
Peso inicial (g)	2.9±0.4	3.1±0.2	3.1±0.2	3.1±0.2
Peso final (g)	11.1±1.3	10.9±1.2	11.1±1.4	11.1±1.4
Ganancia peso (%)	282±45a	253±41c	260±46b	260±48b
SGR ¹	2.05±0.18a	1.92±0.17c	1.96±0.19b	1.95±0.20b
FCR ²	2.4±0.34a	2.2±0.07a	2.3±0.09a	2.2±0.15a
DFI ³ corregido por lixiviación	13.69±0.39a	14.41±0.96a	13.55±0.78a	13.85±0.77a
NPU ⁴	52±1.1a	54±3.5a	50±3.2a	52±2.9 a
PER ⁵	1.32±0.02a	1.40±0.09a	1.35±0.82a	1.35±0.07 a
Sobrevivencia (%)	84.2±11.5a	89.2±6.5a	87.6±4.5a	87.3±4.4 a

Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ SGR: Tasa específica de crecimiento

² FCR: Factor de conversión alimenticia

³ DFI : Consumo camarón 56 días

⁴ NPU: Utilización proteica neta

⁵ PER: Tasa de eficiencia proteica

Los resultados de sobrevivencia del bioensayo de crecimiento muestran un comportamiento muy similar para los ingredientes evaluados, con una tasa de

sobrevivencia superior al 84%. No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$).

Los camarones alimentados con la dieta que contenía harina de soya presentó los valores más altos en ganancia en peso ($282\pm 45.4\%$) y tasa específica de crecimiento SGR (2.05 ± 0.1). El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($P<0.05$) con los demás tratamientos. La dieta con harina de chícharo presentó los valores más bajos en estos dos índices.

El promedio del factor de conversión alimenticia (FCA) obtenido en el bioensayo fue de 2.34. Este dato se encuentra dentro de los rangos normales para ensayos de laboratorio en agua clara, donde no hay efecto de la productividad primaria. No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$).

La tasa de eficiencia proteica (PER) y la utilización proteica neta (NPU) no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$). El valor promedio del PER obtenido en las dietas experimentales fue de 1.36.

6.1.4 Bioensayo de digestibilidad

- Parámetros físico químicos

En la tabla XIV se presenta un resumen de los parámetros fisicoquímicos evaluados durante el bioensayo de digestibilidad. Los parámetros estuvieron dentro de los rangos óptimos para *L. vannamei*

Tabla XIV

Parámetros físico-químicos bioensayo digestibilidad

Temperatura °C	Salinidad %	Oxígeno mg/L	pH
Min. 26.7	Min. 34	Min. 5.2	Min. 6.6
Máx. 30.4	Máx. 36	Máx. 6.0	Máx. 8.15
Prom. 28.5 ± 1.85	Prom. 32 ± 2	Prom. 5.6 ± 0.4	Prom. 7.38 ± 0.78

En la tabla XV se presentan los resultados del coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca, proteína y energía de las dietas experimentales.

Tabla XV

Coefficientes de digestibilidad aparente (CDA) de la materia seca, proteína y energía en las dietas experimentales

Dieta	Dieta soya	Dieta chícharo	Dieta Canola
ADC _{materia}	85 ± 1.2^{ab}	86 ± 1.5^a	80 ± 2.3^c
CV%	1	2	3
ADC _{proteína}	95.8 ± 0.7^a	95.8 ± 0.5^a	94.2 ± 1.0^b
CV%	1	1	1
ADC _{energía}	91.4 ± 1.0^a	92.8 ± 0.7^a	87.5 ± 1.8^b
CV%	1	1	2

La media corresponde a cuatro réplicas \pm S.D. Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

La dieta chícharo y la dieta soya reportaron los mayores CDA_{materia seca} con diferencias significativas con respecto a la dieta canola ($p < 0.05$).

No se observaron diferencias significativas en la CDA_{proteína} y CDA_{energía} entre las dietas soya y chícharo ($p>0.05$).

La dieta canola presentó los resultados más bajos en el CDA_{materia seca}, CDA_{proteína} y CDA_{energía} en comparación con la dieta soya y la dieta chícharo ($p<0.05$). En el análisis bromatológico la dieta canola presentó los niveles más altos de fibra 3%, comparado con la dieta soya y chícharo que presentaron un 1% de fibra (tabla VIII).

En la tabla XVI se presenta los resultados del coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca, proteína y energía de la harina de soya, harina de chícharo y harina de canola.

Tabla XVI

Coefficientes de digestibilidad aparente (CDA) de la materia seca, proteína y energía de los ingredientes

Ingrediente	Ref. diet	Soya	Chícharo	Canola
ADC _{DM}	86±2.5 ^a	80 ±3.77 ^a	86±5.12 ^a	64±8.26 ^b
CV%	3	4.7	6.0	10
ADC _{proteína}	95.5±0.9 ^a	96.5± 2.2 ^a	96.7±1.7 ^a	91.2± 3.3 ^b
CV%	1.0	2.2	1.7	3.6
ADC _{Energía}	92.4 ±1.7 ^a	89.1 ± 3.2 ^a	93.9 ±2.5 ^a	76.2± 6.1 ^b
CV%	1.8	3.6	2.6	8.0

La media corresponde a cuatro réplicas ±S.D. Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ($P<0.05$).

El CDA_{materia seca} más alto fue presentada por la harina de chícharo con un promedio de 86%, seguido por la harina de soya con un 80%. El valor más bajo se presentó en la

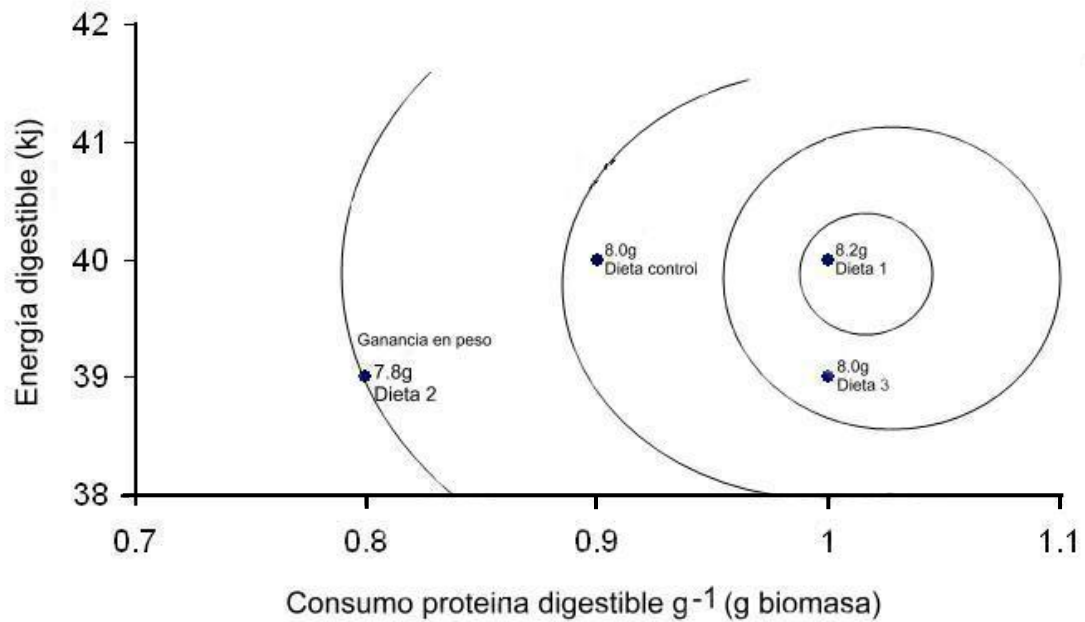
harina de canola con un promedio de 64%. La harina de canola presentó diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos ($p < 0.05$).

En el $CDA_{\text{proteína}}$ y $CDA_{\text{energía}}$ entre la harina de soya, la harina de chícharo y la dieta referencia no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$). La harina de canola presentó los valores más bajos de $CDA_{\text{proteína}}$ y $CDA_{\text{energía}}$ con diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos ($p < 0.05$).

6.1.5 Proteína digestible consumida g-1 (g de biomasa ganado) en relación con la energía digestible (kJ)

Durante el bioensayo de crecimiento se cuantificó el consumo de alimento por día permitiendo calcular la cantidad de proteína consumida por animal/día. Con los resultados de $ADC_{\text{proteína}}$ y $ADC_{\text{energía}}$ se calculó la proteína digestible consumida g-1 (g de biomasa ganado) en relación con la energía digestible (kJ). En un esfuerzo por esquematizar el requisito absoluto de proteína digestible (PD) en relación con la energía digestible (ED) por unidad de la biomasa se presenta la Figura 1.

Los animales alimentados con la dieta soya consumieron 1.0 g de proteína digestible y 40 kJ de energía digestible, obteniendo el mejor crecimiento.



6.1.6 Balance energético

En la tabla XVII se presenta el balance energético de las dietas experimentales utilizando la nomenclatura de la U.S. National Research Council (NRC, 1981).

La dieta 1 (soya), dieta 2(chícharo) y control obtuvieron los valores más altos de energía digestible (ED) 1.56, 1.43 y 1.49 kJ camarón⁻¹ día⁻¹ respectivamente. Mientras la dieta 3 (canola) obtuvo el valor más bajo de energía digestible (ED) 1.04 kJ camarón⁻¹ día⁻¹. Los valores de incremento de calor (HiE) y energía basal (HeE) fueron muy similares para las dietas 1, 2 y 3. La dieta control presentó el valor más bajo de incremento de calor (HiE).

Un comportamiento similar a la energía digestible (ED) se presentó con la energía de crecimiento (RE). Los valores de RE para la dieta 1, 2 y control fueron de 0.88, 0.74, 0.82 kJ camarón⁻¹ día⁻¹, respectivamente; mientras que para la dieta 3 el valor de RE fue el más bajo (0.38 camarón⁻¹ día⁻¹).

Tabla XVII

Balance energético de las dietas experimentales (kJ camarón⁻¹día⁻¹)

Harinas	DE	UE+ZE ⁽¹⁾	HiE	HeE	RE	Porcentaje % eficiencia (RE)
Dieta 1 Soya	1.56	0.1	0.33	0.25	0.88	56
Dieta 2 Chícharo	1.43	0.11	0.26	0.32	0.74	52
Dieta 3 Canola	1.04	0.06	0.30	0.30	0.38	36.5
<i>Control</i>	1.49	0.21	0.14	0.32	0.82	55

⁽¹⁾UE+ZE=(RE+HeE+HiE)*0.09 (Cho and Bureau, 1998)

(ED): energía digestible

(UE+ZE): energía urinaria & branquial

(HiE): incremento de calor

(HeE): energía basal

(RE) : energía de crecimiento

6.2 Fase 2. Niveles de inclusión óptimos de la proteína vegetal seleccionadas

En la tabla XVIII, se presentan los análisis bromatológicos de las dos harinas vegetales seleccionadas. La harina de soya presentó los valores más altos de proteína (46.9%) y carbohidratos (31.3%) en comparación con la harina de canola, la cual presentó valores de proteína y carbohidratos de 38.9 y 29.6, respectivamente. Los niveles de fibra de la harina de canola superaron a los niveles de fibra de la soya en un 60%. De igual manera la grasa y la ceniza fueron superiores en la harina de canola. Con respecto a los aminoácidos analizados la concentración de metionina en la harina de canola fue de 0.79% mientras que la de la soya fue de 0.68%. Esto representa una diferencia de un 14% a favor de la harina de canola. Para el caso de la lisina la diferencia fue de un 16% a favor de la harina de soya. En los demás aminoácidos (arginina, histidina, treonina, leucina, isoleucina, valina, fenilalanina, triptofano) las concentraciones fueron superiores en la harina de soya.

Tabla XVIII

Composición proximal de las harinas vegetales (%)

	Soya	Canola
humedad	8.26	9.12
proteína(Nx6,25)	46.9	38.9
Grasa	3.45	5.92
Fibra Cruda	3.35	8.31
cenizas	6.68	8.16
energía (kJ/g)	18.6	18.8
Carbohidratos ¹	31.3	29.6
Lisina	2.71	2.26
Arginina	3.57	2.11
Histidina	1.26	1.09
Treonina	1.86	1.63
Leucina	3.7	2.5
Isoleucina	2.3	1.48
Valina	2.49	1.81
Metionina	0.68	0.79
Fenilalanina	2.38	1.53
Triptofano	0.66	0.48

¹Carbohidratos (Por diferencia)

En la tabla XIX se presenta la formulación detallada de las dietas experimentales

Los niveles de proteína, lípidos, fibra, colesterol, ácido eicosapentanoico, ácido docosaheptanoico, ácido linoleico, ácido linolénico y calcio se formularon con las recomendaciones de Akiyama *et al.*, 1991. Para la lisina se formuló con los requerimientos para *L. vannamei* publicados por Fox *et al.*, 1995. Los valores de metionina y arginina se basaron en los requerimientos para *P. monodon* publicados por Millamena *et al.*, 1996 y Millamena *et al.*, 1998.

Tabla XIX

Composición de las dietas experimentales (% del alimento)

	Dieta 1: 0% HP	Dieta 2: 6% HP	Dieta 3: 10% HP	Dieta 4: 15% HP
Harina pescado ¹ (HP)	0	6	10	15
Harina de soya	49	45.5	42	35
Harina de canola ²	21	19.5	18	15

Harina de trigo	12	15.9	17.9	23.9
Gluten de trigo ³	4	0	0	0
Harina de calamar	2	2	2	2
Levadura	2	2	2	2
Aceite pescado	5	4	3	2
Lecitina de soya	1	1	1	1
Colesterol	0.4	0.4	0.4	0.4
Pre-mezcla vitaminas y minerales ⁴	0.25	0.25	0.25	0.25
Stay-C (35% actividad)	0.10	0.10	0.10	0.10
Inhibidor de hongos en polvo 1.5 kg/ton	0.15	0.15	0.15	0.15
NaH ₂ PO ₄	1	1	1	1
KH ₂ PO ₄	1	1	1	1
MgCl ₂	1	1	1	1
Total	100	100	100	100

¹ Harina de pescado peruana.

² Harina de canola (Bunge Canadá, Altona Manitoba, Canadá)

³ Gluten de trigo (Flour& Starch Union)

⁴ Vitaminas y minerales (IU/kg or g/kg o mg/kg de premezcla): Vit. A, 10000 IU/g; B1, 30 mg/kg; B2, 15 mg/kg; DL pantotenato de Ca, 50 mg/kg; B6, 35 mg/kg; B12, 40 mcg/kg; Ascórbico, 150 mg/kg; K3, 3 mg/kg; D3, 3500 IU/g; E, 150 IU/g ; niacina, 100 mg/kg; ácido fólico, 4 mg/kg; biotina, 1000 mcg/kg; Mn, 40 mg/kg; Zn, 40 mg/kg; Cu, 25 mg/kg; Fe, 100 mg/kg; Se, 0.3 mg/kg; I, 0.35 mg/kg.

En la tabla XX se presentan los resultados de los análisis bromatológicos de las dietas experimentales. Todas las dietas experimentales fueron isoprotéicas e isoenergéticas. La dieta comercial presentó los niveles más altos de energía digestible (ED) 17 kJ⁻¹g en comparación con 15 kJ⁻¹g de las dietas 0%, 6%, 10% y 15% inclusión harina de pescado (HP). La dieta comercial presentó los niveles más bajos de fibra (1.8%) en comparación con las demás dietas que presentaron rangos desde 2.6% hasta 3.5%. El porcentaje de carbohidratos fue similar tanto en las dietas experimentales como en la dieta comercial.

Tabla XX

Composición proximal de las dietas experimentales (% del alimento)

	Dieta 1: 0% HP	Dieta 2: 6% HP	Dieta 3: 10% HP	Dieta 4: 15% HP	Dieta 5: comercial
Humedad	8.4	8.4	7.8	9.8	7.3
Proteína (Nx6,25)	39.3	38.6	40	38.6	36.0
Grasa	8.8	8.8	8.1	7.2	7.0
fibra cruda	3.4	3.5	3.3	2.6	1.8
Cenizas	7.8	8.2	8.6	8.5	10.5
ED (kJ/g) ¹	15	15	15	15	17*
carbohidratos ²	32.1	36.4	32.1	33.3	37.2
Lisina ³	1.9	2.1	2.2	2.2	2.3 **
Metionina + Cisteina ³	1.0	1.1	1.1	1.1	0.9 **
Arginina ³	2.2	2.2	2.3	2.1	1.9 **
% pérdida materia seca ⁴	9.34± 0.5 ^a	12.6±0.1 ^a	13.3±0.10 ^a	10.04±4.5 ^a	13.2±1.1 ^a

¹Energía digestible. Proteína = 23 kJ/g, lípidos = 35 kJ/g, carbohidratos = 15 kJ/g

* Digestibilidad aparente de la energía obtenida por el método AIA. 88.9%

² Carbohidratos (por diferencia)

³ Valores de la formulación

** Analizador automático de AA (A.O.A.C., 2000, No.988.15).

⁴ Estabilidad de las dietas en agua de mar 1h-inmersión (Aquacop 1978).

Valores de la media corresponden a cuatro réplicas. Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05)

En la tabla XXI se presenta el tiempo de tránsito en minutos de las dietas experimentales y la dieta comercial

Tabla XXI

Tiempo de la tasa de tránsito (minutos) de las dietas experimentales. (Media de ocho réplicas ± desviación estándar)

Dieta	Promedio
Dieta 1 (0% HP)	64.3 ± 4.7 ^a
Dieta 2 (6% HP)	65.3 ± 6.2 ^a
Dieta 3 (10% HP)	64.1 ± 3.1 ^a
Dieta 4 (15% HP)	63.8 ± 4.6 ^a
Dieta 5 Comercial	55.7 ± 2.7 ^b

Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05).

La dieta comercial presentó el promedio de tiempo más bajos de la tasa de tránsito con un valor de 55.7 ± 2.7 minutos. El análisis de varianza mostró la existencia de diferencias significativas (p<0.05) con respecto a los demás tratamientos.

Durante los 95 días del bioensayo se llevó un registró diario de los parámetros físico químicos los cuales se presentan en la tabla XXII.

Tabla XXII

Parámetros físico-químicos bioensayo de crecimiento

Temperatura °C	Salinidad ‰	Oxígeno mg/l
Min. 25	Min. 28	Min. 3.8
Máx. 30	Máx. 32	Máx. 6.7
Prom. 28±0.99	Prom. 30±3	Prom. 5.9±0.64

Los diferentes parámetros productivos evaluados en el bioensayo de crecimiento se encuentran en la tabla XXIII.

Tabla XXIII

Resultados del experimento de crecimiento. 95 días (media de cuatro réplicas ± desviación estándar)

Dieta	Dieta 1 (0% HP)	Dieta 2 (6% HP)	Dieta 3 (10% HP)	Dieta 4 (15% HP)	Dieta 5 Comercial
Sobrevivencia (%)	85,7±2,2 ^a	82±1,6 ^a	86±4,1 ^a	86,5±1,2 ^a	84,0±4,3 ^a
Consumo (g) ⁻¹ día ⁻¹ animal	0,22±0,06 ^b	0,23±0,05 ^b	0,22±0,01 ^b	0,22±0,09 ^b	0,19±0,04 ^a
Peso inicial (g)	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Peso final (g)	12,2±2,5	13,1±2,6	13,2±2,4	13,2±2,4	12,8±2,5
Ganancia de peso (g)	12,2±2,5 ^b	12,8±2,5 ^a	12,9±2,4 ^a	12,9±2,4 ^a	12,6±2,5 ^a
SGR ¹	3,8±0,2 ^b	3,9±0,2 ^a	3,9±0,2 ^a	4,0±0,2 ^a	3,9±0,2 ^a
FCA ²	2,02±0,07 ^b	1,97±0,10 ^b	1,84±0,07 ^b	1,91±0,04 ^b	1,80±0,07 ^a
FE ³	0,53±0,02 ^{ab}	0,55±0,02 ^{ab}	0,59±0,02 ^{bc}	0,57±0,01 ^b	0,64±0,02 ^c
PER ⁴	1,41±0,05 ^c	1,50±0,10 ^b	1,50±0,03 ^b	1,58±0,02 ^b	1,89±0,03 ^a

Medias entre columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ SGR: Tasa específica de crecimiento

² FCA: Factor de conversión alimenticia

³ FE: Eficiencia alimenticia

⁴ PER: Tasa de eficiencia proteica

Los resultados de sobrevivencia del bioensayo de crecimiento muestran un comportamiento muy similar para las diferentes dietas, con una tasa de sobrevivencia superior al 81%. No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$).

Los camarones alimentados con la dieta 0% inclusión harina pescado presentaron los valores más bajos en ganancia en peso (12.2 ± 2.5) y tasa específica de crecimiento SGR (3.8 ± 0.2). El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($P<0.05$) en comparación los demás tratamientos. No se presentaron diferencias significativas en ganancia de peso y tasa específica de crecimiento (SGR) entre los tratamientos 6%, 10% y 15% inclusión harina de pescado y la dieta comercial.

La varianza del peso de cosecha de las dietas 0%, 6%, 10% 15% y la dieta comercial fue 6.3, 6.8, 6.1, 5.6, y 6.4, respectivamente. Las varianzas fueron muy similares, mostrando que la variabilidad en los pesos de cosecha entre las diferentes dietas fue muy parecida.

El promedio del factor de conversión alimenticia (FCA) obtenido en el bioensayo fue de 1.91 (agua clara sin productividad). La dieta comercial presentó el valor más bajo en FCA con un promedio de 1.8 ± 0.07 , con diferencias significativas con los demás tratamientos ($p>0.05$). La eficiencia alimenticia (FE) más altas se observó en el alimento comercial (0.64) mientras que el FE de la dieta 0%, 6%, 10% y 15% fue de 0.53, 0.55, 0.59, 0.57 respectivamente.

El promedio en el consumo por camarón $^{-1}$ día en los 95 días del experimento fue de 0.21 g. No se observaron diferencias significativas en el consumo por camarón $^{-1}$ día entre las dietas 0%, 6%, 10% y 15% inclusión harina de pescado. La dieta comercial presentó los valores más bajos en el consumo animal $^{-1}$ día 0.19 ± 0.04 g

El valor promedio de la tasa de eficiencia proteica (PER) obtenido en las dietas experimentales fue de 1.58. Las dietas 6%, 10% y 15% de inclusión de harina de pescado no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$). La dieta 0% harina de pescado mostró los valores más bajo del PER (1.41 ± 0.05) presentando diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos. El PER más alto fue obtenido por la dieta comercial con un valor de 1.89 ± 0.03 . El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre la dieta comercial y las demás dietas experimentales.

6.3 Fase 3. Evaluación del crecimiento de familias de *L. vannamei* alimentadas con una dieta a base de proteína vegetal

6.3.1 Formulación

En la tabla XXIV se presenta la formulación detallada de las dietas experimentales.

Tabla XXIV

Composición de las dietas experimentales (% del alimento)

	Dieta 1: 30% HP	Dieta 2: 0% HP
Harina pescado ¹ (HP)	30	0
Harina de soya	14	49
Harina de canola ²	0	21
Harina de trigo	41	11
Gluten de trigo ³	4	4
Harina de calamar	2	2
Levadura	2	2
Aceite pescado	4	5
Lecitina de soya	2	2
Colesterol	0.4	0.4
Pre-.mezcla vitaminas y minerales ⁴	0.25	0.25
Stay-C (35% actividad)	0.10	0.10
Inhibidor de hongos en polvo 1.5 kg/ton	0.15	0.15
NaH ₂ PO ₄		1
KH ₂ PO ₄		1
MgCl ₂		1
Total	100	100

¹ Harina de pescado peruana

² Harina de canola (Bunge Canadá, Altona Manitoba, Canadá)

³ Gluten de trigo (Flour& Starch Union)

⁴ Vitaminas y minerales (IU/kg or g/kg o mg/kg de premezcla): Vit. A, 10000 IU/g; B1, 30 mg/kg; B2, 15 mg/kg; DL Ca pantotenate, 50 mg/kg; B6, 35 mg/kg; B12, 40 mcg/kg; Ascorbico, 150 mg/kg; K3, 3 mg/kg; D3,3500 IU/g; E, 150 IU/g ; niacina, 100 mg/kg; acido folico, 4 mg/kg; biotina, 1000 mcg/kg; Mn, 40 mg/kg; Zn, 40 mg/kg; Cu, 25 mg/kg; Fe, 100 mg/kg; Se, 0.3 mg/kg; I, 0.35 mg/kg.

Las dos dietas fueron isoproteicas e isoenergéticas. El porcentaje de humedad y grasa fue similar para ambas dietas. Los niveles de fibra fueron superiores en la dieta 0% HP (3.5%) comparado con la dieta 30 %HP con valores de 1.0 %. (Tabla XXV).

Tabla XXV

Análisis proximal de las dietas evaluadas (g por cada 100 g de MS)

	Dieta 1 30% HP	Dieta 2 0% HP
Humedad	9.6	10
Proteína (Nx6,25)	37	38
Grasa	9.7	9.6
Fibra	1.0	3.5
Cenizas	6.2	7.8
ED (kJ/g) ¹	15	15
Lisina ²	2.1	1.9
Metionina+cisteina ²	1.2	1.0
Arginina ²	1.8	2.2

¹energía digestible. Proteína = 23 kJ/g, lípidos = 35 kJ/g, carbohidratos = 15 kJ/g

² valores de formulación

No se observan diferencias significativas ($P>0.05$) en la tasa de tránsito (minutos) entre las dietas evaluadas. No obstante la lixiviación de la materia seca fue mayor en la dieta 0% harina de pescado ($9.2 \pm 1.2\%$) con diferencias significativas ($p<0.05$) con respecto a la dieta 30% harina de pescado ($6.0 \pm 0.6\%$). Tabla XXVI

Tabla XXVI

Análisis de lixiviación y tasa de tránsito de las dietas evaluadas. Los datos representan la media y la desviación estándar para cuatro réplicas ($r=4$) por análisis *

	Dieta 1 30% HP	Dieta 2 0% HP
Lixiviación MS (%) ¹	6.0 ± 0.6 a	9.2 ± 1.2 b
Tasa tránsito (minutos) ²	67.8 ± 4.3 a	64.3 ± 4.7 a

*Filas con la misma letra no presentan diferencias significativas ($p<0,05$)

¹ Por inmersión en agua de mar 1 hora: método de Aquacop (1978).

² Ocho réplicas tasa de tránsito ($n= 8$)

6.3.2 Análisis del Crecimiento

En la tabla XXVII se presentan los valores medios, mínimos y máximos de la temperatura, oxígeno y salinidad durante los 107 días de cultivo. Todos los valores de los parámetros físico químicos evaluados se encuentran dentro de los límites permitidos para calidad de agua en el cultivo de camarón.

Tabla XXVII.

Parámetros fisicoquímicos. Se presentan los valores medios, mínimos y máximos registrados durante los 107 días de cultivo

Dieta	Ref.	Temperatura (°C)		Oxígeno OD (mg.l ⁻¹)		Salinidad (%)
		Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	
0% HP	Med	27.7	29.2	4.1	4.4	30.1
	Min	26.0	26.2	3.1	3.6	23.0
	Max	29.5	30.7	5.0	5.7	36.0
30% HP	Med	27.7	29.1	4.4	4.6	30.2
	Min	26.2	26.3	3.8	4.0	21.0
	Max	29.4	30.7	5.4	5.7	36.0

En la tabla XXVIII se presentan los resultados de los parámetros productivos de las dietas evaluadas. La sobrevivencia para las dos dietas fue muy similar. El promedio de sobrevivencia para la dieta 0% fue del 91.9% mientras que la sobrevivencia para la dieta 30% fue del 92%. La ganancia de peso fue mayor en la dieta 0% harina de pescado (17.2 ± 3.0 g) que en la dieta 30% harina de pescado (14.8 ± 2.8 g). El factor conversión de la dieta 0% y 30% harina de pescado fue de 3.0 y 2.8 respectivamente.

Tabla XXVIII

Parámetros productivos de dos grupos de 55 familias de *L. vannamei* alimentadas con dos dietas (0% y 30% de harina de pescado) durante 107 días de cultivo. Los datos representan la media y la desviación dentro de grupo de dietas

Dieta	Dieta 1 30%HP	Dieta 2 0%HP
Peso promedio. siembra (g)	5.7±1.0	5.7±1.0
Peso promedio. cosecha (g)	20.5±3.0	22.9±3.1
Ganancia peso promedio. (g)	14.8±2.8	17.2±3.0
SGR (%)	1.1	1.3
FCA	2.8	3.0
DFI (g/día⁻¹anim.)	0.37±0.1	0.46±0.1
Sobrevivencia (%)	92.0	91.9
Crecimiento (g/semana⁻¹)	0.97	1.12

SGR: Tasa específica de crecimiento

FCA: Factor de conversión alimenticia

DFI : Consumo camarón día

PER: Tasa de eficiencia proteica

En la Figura 2 se muestra el comportamiento del consumo (kJ día⁻¹ camarón⁻¹) en los camarones alimentados con las dos dietas. Estos valores están corregidos por la lixiviación. Durante los 107 días del experimento el consumo kJ día⁻¹ camarón⁻¹ en la dieta 0% harina de pescado fue de 741 kJ día⁻¹ camarón⁻¹ mientras que para la dieta 30% harina de pescado el consumo fue de 675 kJ día⁻¹ camarón⁻¹. A partir del día 85 las diferencias el consumo kJ día⁻¹ camarón⁻¹ disminuyen entre los tratamientos.

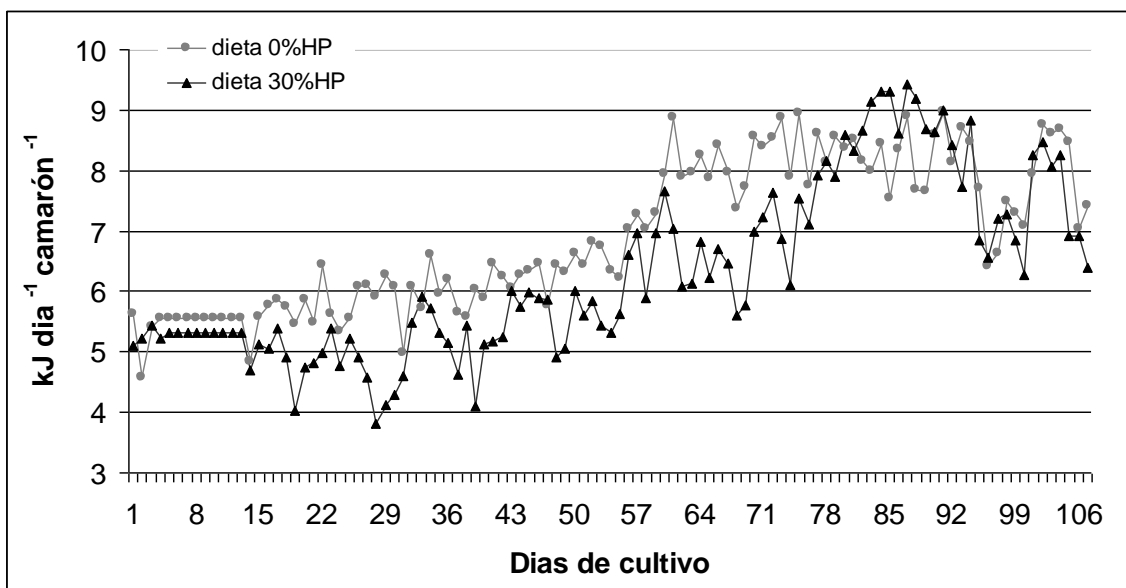


Figura 2. Consumo ($\text{kJ día}^{-1} \text{ camarón}^{-1}$) en *L. vannamei*, alimentados con dos diferentes dietas (0 % harina pescado, 30% harina pescado) durante 107 días de cultivo. Los valores están corregidos por la lixiviación

De las 55 familias evaluadas, 52 familias presentaron mejor crecimiento con las dieta 0% harina de pescado y solamente en dos familias el crecimiento fue mayor con la dieta 30% harina de pescado; en la familia restante la ganancia en peso fue similar.

En la mayoría de las familias la sobrevivencia estuvo por encima del 80%. Solamente 2 familias de las 55 evaluadas estuvieron por debajo del 60% de sobrevivencia. Las diferencias en crecimiento observadas entre las familias no fueron afectadas por la sobrevivencia, dado que todas las familias estuvieron en el mismo ambiente a similares densidades de siembra y cosecha.

En la Figura 3 se presenta el análisis de correlación, para el peso de cosecha (g) de las familias alimentadas con 0% y 30% harina de pescado. El resultado del coeficiente de correlación de Pearson fue de 0.640 ($P < 0.0001$) y el de Spearman fue de 0.553 ($P < 0.0001$).

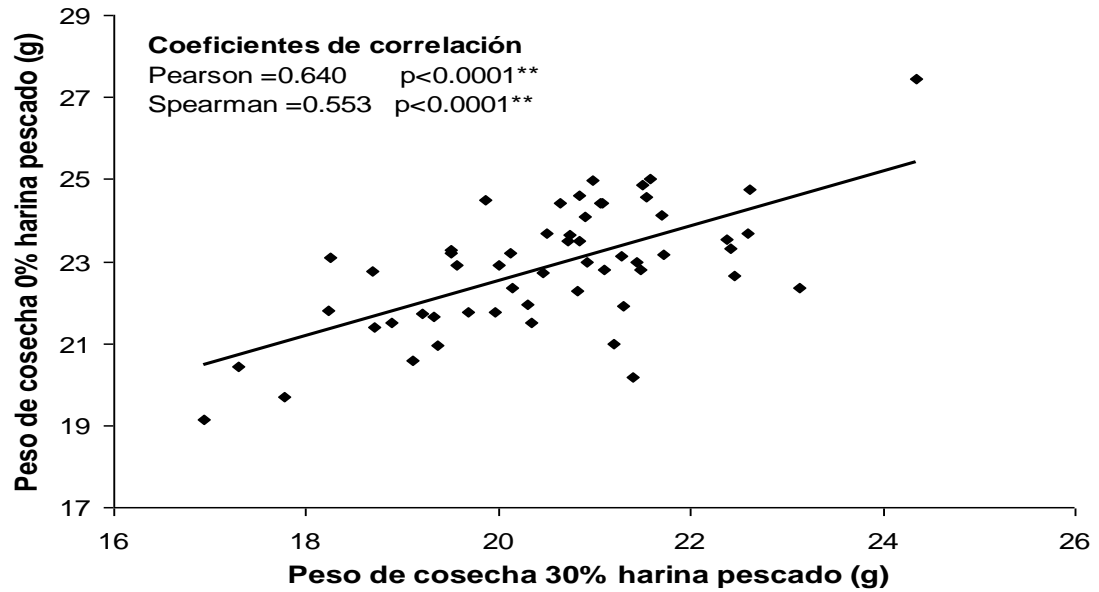


Figura 3. Correlación entre el peso de cosecha de 55 familias de *L. vannamei* alimentadas con dos dietas (0% y 30% de harina de pescado)

Para explicar las fuentes de variación que podrían estar influyendo en el peso de cosecha y evaluar el efecto de la interacción familia x dieta, se hizo un modelo lineal general (Proc GLM) en el que se incluyó el efecto dieta, sexo, familia y la interacción familia x dieta (Tabla XXIX). El modelo explico el 36% de las fuentes de variación en el que la dieta, el sexo y la familia fueron altamente significativos. De igual manera, la interacción familia x dieta fue significativa, en donde se indica que el efecto dieta tiene influencia en el potencial de crecimiento de las familia.

Tabla XXIX.

ANOVA para la adecuación de el modelo lineal general (GLM) en el peso de cosecha de 55 familias de hermanos enteros de *L. vannamei* alimentados con dos dietas (0% harina de pescado, 30% harina pescado). La variable de respuesta peso de cosecha a 107 días de cultivo. Análisis en SAS® por Tipo III. a, b

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Significancia
Modelo	110	5956.801390	54.152740	7.820	<.0001**
Error	1500	10384.114810	6.922740		
Total	1610	16340.916200			
Dieta	1	2175.724304	2175.724304	314.290	<.0001**
Familia	54	2924.282074	54.153372	7.820	<.0001**
Sexo	1	187.615518	187.615518	27.100	<.0001**
Dieta*Familia	54	591.091777	10.946144	1.580	0.005*

a. El valor de correlación del modelo es $r^2=0.36$

b. Los datos provienen de n=795 y n=816, para 30% y 0% harina pescado, respectivamente

** Altamente significativo * Significativo

En la tabla XXX se presenta una prueba F para la igualdad de la varianza del peso medio de cosecha de las 55 familias entre las dos dietas. Se observa claramente que no hay diferencias entre las varianzas de las familias alimentadas con las dos dietas ($p = 0.382$).

Tabla XXX

Prueba F para el análisis de igualdad de varianzas entre 55 familias de *L. vannamei* alimentadas con dos dietas (0% harina de pescado y 30% harina de pescado)

	0% harina de pescado	30% harina de pescado
Media	22.87	20.52
Varianza	2.31	2.13
Observaciones	55	55
Grados de libertad	54	54
Prueba F	1.0855	
P (F < f)	0.3821 ^{na}	
Valor crítico para F	1.5709	

^{na} No hay diferencias significativas

7. DISCUSIÓN

Por primera vez un estudio de nutrición en camarón, se tiene en cuenta el nivel de consanguinidad para evitar respuestas confundidas que son más debidas a los efectos negativos de la consanguinidad que a la calidad de los ingredientes y dietas. El promedio del valor de consanguinidad por generación en los animales usados en este estudio estuvo en el rango entre 0.55 a 1.2% (Gitterle *et al.*, 2005).

El tema del uso de la harina de pescado ha sido tratado durante años, y si se considera la presión actual que hay sobre su uso. En este contexto, es un objetivo primordial seleccionar fuentes de proteína vegetal que permitan remplazar la harina de pescado sin afectar los principales parámetros productivos de la industria. Diferentes reportes de digestibilidad de ingredientes y dietas para camarón han sido descritos por varios autores. La mayoría de estas publicaciones coinciden en que el primer punto de discusión es el tipo de marcador a utilizar. Entre varios marcadores, la zeolita fue elegida para este estudio, considerando que para *L. vannamei*, los reportes obtenidos por diferentes autores presentaron un coeficiente de variación menor al 8% lo que hace muy aceptable y seguro el marcador seleccionado. Morales *et al.*, (1999) obtuvo una gran variabilidad en los resultados en peces cuando utilizó la zeolita como marcador. Sin embargo, este estudio pierde relevancia por tratarse de una especie completamente diferente al camarón. La decisión de elegir entre una metodología *in vivo* o *in vitro* es un factor determinante en un estudio de digestibilidad. En el presente estudio se optó por la metodología *in vivo* por que involucra el proceso digestivo del ingrediente en las condiciones fisiológicas del animal, aumentando la precisión de los resultados.

El coeficiente de digestibilidad de la materia seca (CDA_{materia seca}) es un parámetro importante por que considera la cantidad de nutrientes que son digeridos y absorbidos

por el animal (Brunson *et al.*, 1997). En el presente análisis el CDA_{materia seca} más alto fue presentado por la harina de chícharo (descascarillado, micro triturado y extruído) con un promedio de 86%, seguido por la harina de soya con un 80%. El valor más bajo se presentó en la harina de canola con un promedio de 64%. Los valores de CDA_{materia seca} de la harina de chícharo en el presente estudio son mayores que los reportados por Cruz *et al.*, (2001) en *L. stylirostris* y Smith *et al.*, (1999) y Bautista *et al.*, (2003) en *Penaeus monodon*. El primer autor reporta un CDA_{MS} para la harina de chícharo del 80.2% mientras que el segundo y el tercero reportan un CDA_{materia seca} del 80% y 73% respectivamente. Para el caso de la harina de soya Divakaran *et al.*, (2000), reportó un CDA_{MS} entre 61.2 y 84.7% para *L. vannamei*. Este mismo autor encontró que la digestibilidad era dependiente del porcentaje de inclusión de la harina de soya que se utilizó en las dietas experimentales. Para la canola Cruz *et al.*, (2001) obtuvo un CDA_{materia seca} del 74.4% en el camarón blanco *L. stylirostris*.

Los valores altos del CDA_{proteína} en este estudio fueron superiores al 80% y están acordes a los reportados por Divakaran *et al.*, (2000) para la harina de soya y los reportados por Cruz *et al.*, (2001) y Smith *et al.*, (1999) para harina de chícharo. Los altos valores observados del CDA_{proteína} de la canola son superiores a los reportados por Cruz *et al.*, (2001), quien obtuvo un CDA_{proteína} de 80%, comparado con el obtenido en este estudio de 91%. Este progreso en la digestibilidad en la canola es el resultado de la optimización en el proceso tecnológico utilizado en el cultivo y transformación del ingrediente. En futuros experimentos se necesita investigar la influencia del nivel de proteína en el CDA y posibles efectos asociativos (Cousin *et al.*, 1996). El CDA_{energía} de la harina de soya en esta prueba fue de 89.1%. Divakaran *et al.*, (2000) reporta para *L. vannamei* con dos niveles de reemplazo valores entre 78.7 y 100.1%. Los resultados de CDA_{energía} en el presente estudio para la harina de chícharo fueron de 93.9%, siendo significativamente diferentes con respecto a las demás dietas experimentales. La harina de canola presentó el mas bajo valor de CDA_{energía}. 76.2 %. Los valores de CDA_{materia seca}, CDA_{proteína} y CDA_{energía} en este estudio tuvieron una tendencia a disminuir con la cantidad de fibra que contiene los ingredientes usados. Los resultados de CDA para la

canola fueron significativamente más bajos que los obtenidos por la harina de chícharo y de soya.

Los coeficientes de digestibilidad aparente de la materia seca, proteína y energía de los ingredientes en este estudio tuvieron la tendencia a ser más altos que los coeficientes de digestibilidad reportados por otros autores. En este estudio las heces fueron recolectadas 30 minutos después de haber sido excretadas por los camarones, así que no se considera que se presentaran pérdidas por lixiviación por que la membrana peritrófica que recubre las heces previene que se pierdan nutrientes y se desmoronen las heces (Cousin *et al.*, 1996). Fenucci *et al.*, (1982) en su estudio de digestibilidad con *L stylirostris* encontró que las heces después de 6 horas de inmersión solo perdieron un 4% y 8% de proteína y carbohidratos respectivamente. Los camarones alimentados con la dieta que contenía harina de soya presentaron los valores más altos en ganancia en peso ($282\pm 45.4\%$) y la mayor tasa específica de crecimiento SGR (2.05 ± 0.1). El análisis estadístico mostró diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos. La dieta con harina de chícharo presentó los valores más bajos en estos dos índices. Es importante mencionar que las dietas en este bioensayo no fueron isoproteicas debido a la formulación 70% dieta referencia y 30% del ingrediente. A pesar de esto todas las dietas cumplieron con los requerimiento nutricionales para *L vannamei*.

La dieta que contiene harina de chícharo a pesar de haber presentado los niveles más altos de CDA materia seca, CDA proteína y CDA energía, presentó los niveles más bajos en la tasa específica de crecimiento (SGR) y ganancia en peso. Las diferencias significativas encontradas en crecimiento entre la harina de chícharo y las demás dietas experimentales son explicadas por el menor nivel de proteína en esta dieta. Para que los animales alimentados con soya obtuvieran el mejor crecimiento, por cada gramo de biomasa producida, los animales consumieron 1.0 g de proteína digestible y 40 kJ de energía digestible. Para los animales alimentados con chícharo por cada gramo de biomasa producida, los animales consumieron 0.8 g de proteína digestible y 39 kJ de energía digestible. Esta diferencia explica el bajo desempeño en crecimiento de los animales alimentados con la dieta chícharo (Figura 1).

El nivel inferior de energía digestible (ED) en la dieta³ (canola) esta relacionada con factores antinutricionales, niveles de fibra y procesamiento del ingrediente. Los valores de incremento de calor aparente (HiE) para la dieta soya, chícharo y canola fueron muy similares. Sin embargo en el balance energético la dieta control presentó el valor más bajo de incremento de calor aparente (HiE). Este resultado podría sugerir que los camarones alimentados con dietas diseñadas con fuentes de origen marino como la harina de pescado tienen un menor gasto energético que los alimentados con proteínas de origen vegetal, lo que indica un mayor trabajo mecánico y químico. La energía basal (HeE) fue similar tanto en las dietas experimentales como en la dieta control. Esto permite inferir que el metabolismo en términos de mantenimiento (HeE) no cambia con los niveles de proteína de las dietas usadas en el presente experimento. En el balance energético la dieta con harina de canola presentó la más baja eficiencia de la energía destinada para crecimiento (RE) (36.5%), comparada con las demás dietas experimentales que estuvieron por encima del 50%. Estos resultados son congruentes con los datos obtenidos en el bioensayo de digestibilidad en el que la dieta canola presentó los más bajos coeficientes de digestibilidad de la energía. Por esta razón en el momento que se quiera incluir la canola como ingrediente para dietas de camarones se recomienda utilizarla con otros ingredientes que tengan un aporte energético alto como la harina de soya, lo que también contribuye a diluir los factores antinutricionales.

A pesar de los valores inferiores de la dieta canola en $CDA_{energía}$ y (RE) en el balance energético, este ingrediente fue seleccionado junto a la soya para el experimento de niveles de inclusión para reemplazar la harina de pescado. Las razones fueron: 1) altos niveles proteína con altos valores de metionina, 2) niveles aceptables de $CDA_{proteína}$ 3) precios competitivos similares a la harina de soya. La harina de chícharo se descartó por sus bajos niveles de proteína y sus altos costos en los mercados internacionales.

En el experimento de niveles de inclusión (Fase 2), la dieta con el 6% de inclusión de harina de pescado corresponde al nivel máximo de reemplazo de harina de pescado por harinas vegetales, sin afectar la ganancia de peso, la tasa específica de crecimiento (SGR) y la sobrevivencia. La combinación de harina de soya y canola resultaron sustitutos adecuados para reemplazar la harina de pescado en dietas para *L. vannamei* con un nivel de sustitución del 80%. Este resultado coincide con el estudio de Alvarez *et al.*, 2007 para *Penaeus Schmitti* en el que se logro reemplazar el 76.5% la harina de pescado por harina de soya sin afectar la respuesta en crecimiento. A pesar de que la canola obtuvo resultados más bajos en la digestibilidad aparente de la materia seca y energía, se seleccionó este ingrediente por sus niveles altos de aminoácidos azufrados. El promedio de la sobrevivencia para el presente bioensayo fue superior al 81%. Esta cifra demuestra que el estado de salud de los camarones fue excelente y que las dietas experimentales no tuvieron deficiencias en los requerimientos de nutrientes esenciales para *L. vannamei*. Los camarones se cosecharon cuando se observó un peso promedio de 13.0 g con un porcentaje de ganancia de peso superior al cuatro mil por ciento. Normalmente los biosayos de nutrición en camarones son más cortos en tiempo, pero en el presente estudio se decidió cosechar a los 95 días para semejar las condiciones comerciales de cultivo. Como se mencionó en la sección de resultados, no se observaron diferencias significativas en la ganancia de peso y tasa específica de crecimiento (SGR) en las dietas 6%, 10%, 15% inclusión harina de pescado y en la dieta comercial. Los resultados en crecimiento y sobrevivencia en este estudio confirman que *L. vanamei* puede ser alimentado con la mezcla de harinas vegetales (70% soya- 30% canola) reduciendo la cantidad de harina de pescado de 30 a 6g /100 g peso seco (correspondiente a una reducción del 80%)

Es importante considerar que al reemplazar un ingrediente como la harina de pescado, se sustituyen muchos nutrientes que hacen parte integral del ingrediente. De aquí, la dificultad de reemplazar la totalidad de las fuentes de proteína de origen marino (Akiyama *et al.*, 1991; Lim *et al.*, 1998; Tacon and Barg, 1998; Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000; Fox *et al.*, 2004). Es muy probable que con la dieta 0% se pudieran

obtener resultados satisfactorios cuando se evalué en condiciones comerciales con aporte de los nutrientes del fito y zooplancton. Davis et al., 2004.

El consumo $^{-1}$ animal $^{-1}$ día en la dietas 0%, 6%, 10% y 15% inclusión HP fue significativamente superior que en la dieta comercial. En este estudio los valores de consumo $^{-1}$ animal $^{-1}$ día fueron ajustados a la lixiviación de la materia seca y por tal motivo se descarta que las diferencias en el consumo se deban a la lixiviación. Tampoco los niveles de fibra influyeron en el consumo debido a que tanto en las dietas experimentales como en la dieta comercial los valores fueron inferiores al límite superior (4.0%) recomendado por Akiyama *et al.*, 1991. De igual manera, no se observó una aparente relación de la tasa de tránsito con los niveles de fibra. Las diferencias en consumo $^{-1}$ animal $^{-1}$ día entre los tratamientos son explicadas por las desigualdades en energía digestible (ED) entre la dieta comercial ($17\text{kJ}^{-1}\text{g}$) y las dietas experimentales ($15\text{kJ}^{-1}\text{g}$). Cousin (1995) reporta para *L.vannamei* y *L. stylirostris* disminución en el consumo de la dieta, cuando la carga energética de la dieta aumenta. Diferencias en la energía del alimento puede provocar cambios en la ingestión del alimento (NRC, 1981).

Amaya *et al.*, 2007 recomienda incluir 1% de harina de calamar para mejorar la atractabilidad y palatabilidad de las dietas. En el presente estudio se uso 2% de harina de calamar en las dietas experimentales. Como se discutió en el párrafo anterior el consumo $^{-1}$ animal $^{-1}$ día en la dieta 0%, 6%, 10% y 15% HP fue mayor que el consumo en la dieta comercial, esto permite inferir que no se presentó una disminución en la atractabilidad y palatabilidad de las dietas experimentales.

La superioridad de la harina de pescado se observa claramente en la dieta comercial obteniendo el mejor desempeño en el consumo $^{-1}$ día $^{-1}$ animal, FCA, FE y PER. Amaya *et al.*, 2007 reemplazó la totalidad de la harina de pescado por fuentes de proteína vegetal, utilizando en la formulación un 39.5% de harina de soya. En ese estudio las evaluaciones se hicieron a nivel semi-comercial con agua verde. Es muy posible que los resultados obtenidos, se hayan debido al aporte de nutrientes del fito y zoo plancton del sistema, enmascarando el verdadero aporte de los nutrientes de las dietas

experimentales. También hay que tener en cuenta que la productividad primaria cambia drásticamente de una zona a otra y está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales. A diferencia del estudio precedente el presente estudio se hizo con agua clara a alta densidad (50 juveniles / m²) sin ningún tipo de productividad hasta que los animales obtuvieron la talla comercial. Los tanques fueron mantenidos en oscuridad total durante todo el experimento con un recambio diario del 100 % de agua.

Usualmente las fábricas productoras de alimento utilizan en su formulación un 30% de inclusión de harina de pescado. En la presente investigación se logró diseñar un alimento con tan solo 6% de este ingrediente sin afectar la sobrevivencia y el crecimiento, representado una disminución de un 80% en la inclusión de harina de pescado en las formulas para *L. vannamei*. Este resultado tendrá un impacto económico y ambiental muy importante en el futuro de la camaronicultura. Es importante en próximas investigaciones corroborar estos resultados en condiciones comerciales de cultivo.

En el estudio de evaluación del crecimiento de familias de *L. vannamei* alimentadas con una dieta a base de proteína vegetal (Fase 3). La sobrevivencia general en ambas dietas fue superior al 90% lo que demuestra que los animales tuvieron excelentes condiciones de salud y de calidad de agua. La ganancia en peso, la tasa específica de crecimiento (SGR) y el crecimiento semanal, fue mayor con la dieta 0% harina de pescado, aproximadamente en un 14%, que en la dieta 30% harina de pescado. No obstante se observa claramente que el consumo por animal día⁻¹ en la dieta 0% fue superior en un 20% que el consumo en la dieta 30% harina de pescado. En este estudio los valores de consumo⁻¹animal⁻¹ día fueron ajustados a la lixiviación de la materia seca y por tal motivo se descarta que las diferencias en el consumo se deban a la lixiviación. Las diferencias en el consumo entre las dietas tuvieron un efecto importante en la cantidad de energía diaria consumida por animal (kJ día⁻¹camarón⁻¹). En la tasa de tránsito del alimento no se observaron diferencias significativas entre las dietas lo que permite inferir que el nivel de fibra no afectó el tiempo de tránsito del alimento en el

tracto digestivo. La dieta 0%HP presentó el nivel más alto de fibra (3.5%) y este es inferior al límite superior recomendado por Akiyama *et al.*, 1991.

Como se mencionó en los resultados, la ganancia en peso del 94.5% de las familias evaluadas fue superior en la dieta 0% HP. Este resultado tiene una gran importancia por que indica que la dieta sin harina de pescado no afectó negativamente el potencial de crecimiento en las familias evaluadas. Esto demuestra que *L. vannamei* tiene la capacidad para aprovechar de una manera eficiente los nutrientes de las harinas vegetales utilizadas en la formulación de la dieta en mención y que la dieta fue bien formulada para la especie. El presente estudio muestra tal como lo mencionaron Lovett y Felder, (1990) que los camarones peneidos y especialmente *L. vannamei*, presentan un equipo enzimática capaz de digerir alimentos de muy diverso origen.

A pesar de que el programa de selección en Colombia se ha basado desde sus inicios (1997) en la selección de familias alimentadas con dietas comerciales con altos niveles de harina de pescado (30%), los resultados de este estudio sugieren que *L. vannamei* bajo un control de la consanguinidad no ha perdido su habilidad en la utilización efectiva de dietas alternativas basadas en harinas vegetales sin harina de pescado.

Las correlaciones entre el peso de cosecha entre las familias alimentadas con 0% y 30% de harina de pescado fueron significativas pero menores, comparadas con la correlaciones históricas de CENIACUA (datos sin publicar) en las que se ha utilizando una mismo tipo de dieta. Este resultado sugiere que el efecto dieta podría tener influencia en el potencial de crecimiento de las familias.

Las varianzas entre las medias familiares entre los dos grupos de dietas fueron muy similares y se infiere que la variabilidad del peso de cosecha entre las familias no fue afectada por el tipo de dieta.

En el presente experimento los dos tratamientos fueron alimentados “*ad libitum*”, sin embargo Sanchez *et al.*, (2001) encontró en *Salmo trutta* que las diferencias en

crecimiento no aparecen cuando los animales son alimentados bajo un régimen de restricción. También observó que las diferencias en crecimiento son debidas al consumo de alimento y no a la eficiencia alimenticia. Por tal motivo, se recomienda comparar el crecimiento familiar en *L. vannamei* bajo un régimen de restricción y “*ad libitum*” y verificar si las diferencias en crecimiento se mantienen entre las dietas 0% HP y 30%HP

Austreng *et al.*, (1977); Edward *et al.*, (1977); Refstie and Austreng, (1981) no encontraron interacción familia x dieta en la trucha arco iris *O. mykiss* con dietas isoenergéticas e isoproteicas con diferentes niveles de carbohidratos. En contraste, Austreng and Refstie, (1979) reportan interacción familia x dietas en familias de trucha arco iris alimentadas con dietas con diferentes niveles de proteína. Los autores concluyen que la utilización de la proteína puede ser mejorada con la selección. En un estudio más reciente en trucha, Blanc, (2002) uso dietas con diferencias marcadas en su composición con el objetivo de maximizar la interacción, sin embargo los resultados mostraron una baja interacción familia x dieta. El presente estudio es el primer reporte de interacción familia x dieta en el camarón *L. vannamei* indicando que el efecto dieta tiene influencia en el potencial de crecimiento de las familia. Teniendo en cuenta que las dietas fueron isoenergéticas e isoproteicas y que las diferencias en la formulación se debieron principalmente a la presencia y ausencia de la harina de pescado se puede inferir que la utilización de las fuentes de proteína vegetal por parte de los camarones podría ser mejorada con programas de selección. No obstante, la interacción familia x dieta solo explica el 3.6% de la variación de los datos, por tal motivo es importante continuar las evaluaciones de las familias con dietas formuladas con altos niveles de harinas vegetales (0% HP) y verificar si la interacción familia x dieta se conserva en el tiempo. Los resultados de este estudio indican la importancia de implementar programas de selección genética en el que el efecto de la dieta se tenga en cuenta para la selección de familias e individuos con mayor crecimiento. El trabajo conjunto entre la genética y la nutrición, podría en el futuro aportar resultados importantes para resolver la problemática de la dependencia de la harina de pescado en los alimentos diseñados para especies acuícola.

8. CONCLUSIONES

Las materias primas y la fabricación de las dietas experimentales cumplieron con todas las exigencias y estándares de calidad exigidos comercialmente.

El marcador inerte elegido para este estudio (zeolita[®]NF) cumple con todas las características para estudios de digestibilidad en camarones.

Al evaluar en conjunto las pruebas digestibilidad y balance energético la harina de soya fue el ingrediente que presentó el mejor desempeño, se puede concluir que esta fuente de proteína vegetal sigue siendo la alternativa más viable para el reemplazo de la harina de pescado en dietas para *L. vannamei*.

Por el contenido nutricional de la harina de canola, se concluye que es posible incorporar hasta un 30% sin alterar el rendimiento productivo en términos de crecimiento y conversión alimenticia para *L. vannamei*.

La harina de chícharo tuvo un buen desempeño en el bioensayo de digestibilidad y balance energético. Se descarta como fuente de proteína vegetal para reemplazar la harina de pescado en alimentos para *L. vannamei*, por sus bajos niveles de proteína y por sus altos costos en el mercado internacional.

La mezcla de harinas vegetales (70% soya- 30% canola) puede utilizarse en la formulación de dietas para *L. vannamei* sin afectar la sobrevivencia y el crecimiento, reduciendo la cantidad de harina de pescado de 30 a 6g /100 g peso seco, correspondiente a una reducción del 80%

La inclusión de 2% de harina de calamar en las dietas, fue suficiente para garantizar el consumo.

L. vannamei en etapa de crecimiento tiene la capacidad para aprovechar de una manera eficiente los nutrientes de las harinas vegetales utilizadas en este estudio.

La dieta sin harina de pescado no afectó negativamente el potencial de crecimiento en las familias evaluadas, bajo las condiciones experimentales antes señaladas.

La variabilidad del peso de cosecha entre las familias no fue afectada por el tipo de dieta.

La utilización de de las fuentes de proteína vegetal podría ser mejorada con programas de selección genética dada la interacción significativa familia x dieta. Se recomienda continuar las evaluaciones de las familias con dietas formuladas con altos niveles de harinas vegetales (0% HP) y verificar si la interacción familia x dieta se conserva en el tiempo.

Se recomienda comparar el crecimiento familiar en *L. vannamei* con el régimen de restricción y “*ad libitum*” y verificar si las diferencias en crecimiento se mantienen entre las dietas 0% HP y 30% HP

LITERATURA CITADA

Akiyama D, Dominy W, Lawrence A. 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry revised. In: Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. Singapore, pp. 80–90.

Alvarez J. S, Hernandez-Llamas A, Galindo J, Fraga L, García T, Villarreal H. 2007. Substitution of fishmeal with soybean meal in practical diets for juvenile white shrimp *L. schmitti* (Perez-Farfante & Kensley 1997). *Aquaculture Research* 38: 689-695.

Amaya E, Davis A, Rouse D. 2007. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*L. vannamei*) reared under pond conditions. *Aquaculture* 262 : 393–401.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International. 12th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA.

AOAC.2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed.. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersberg, USA.

A.O.A.C.2004. Official Methods and Recommended of the AOAC, 15th ed.. Second printing.includes all changes 1998-2003. American Oils Chemist's Society Champaign, Illinois, USA.

Aquacop. 1978 . Study of the nutritional requeriments of *Penaeus merguensis* in tanks by means of purified and artificial diets. *Proc, world mariculture Soc* 9: 225-234.

Atkinson J, Hilton J, Slinger J. 1984. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator of feed digestibility in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquat Sci* 41: 1384– 1386.

Austreng E, Terje Refstie. 1979. Effect of varying dietary protein level in different families of rainbow trout. *Aquaculture* 18: 2145-156.

Austreng E, Risa D, Hvidsten E. 1977. Carbohydrate in rainbow trout diets. II. Influence of carbohydrate levels on chemical composition and feed utilization of fish from different families. *Aquaculture* 11: 139-50.

Bautista-Teruel M, Eusebio P, Welsh P. 2003. Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon* *Aquaculture* 225: 121-131.

Black L, Campbell G, Williams H, Janes K, Davis G. 1986. Simulation of energy and amino acid utilization in the pig. *Res. and Develop. in Agric* 3:121.

Blanc J. 2002. Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research* 33: 563–568.

Brunson F, Romaine R, Reigh R. 1997. Apparent digestibility of selected ingredients in diets for white shrimp *Penaeus setiferus*. *Aquaculture Nutrition* 3(1): 9-16.

Burel C, Boujard A, Escaffre S, Kaushik G, Boeuf A, Van der Geyten M, and Kuhn E. 2000. Dietary low-glucosinolate rapeseed meal affects thyroid status and nutrient utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Brit. J. Nutr.* 83: 653-664

Castell G, Guenter W, Igbasan A, 1996. Nutritive values of peas and non-ruminant diets. *Animal Feed Science Technology* 60: 209-227.

Cho C, Bureau D. 1998. Development of bioenergetic models and the Fish- PrFEQ software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture. *Aquat. Liv. Res.* 11: 199-210.

Chou R, Her B, Su M, Hwang G, Wu Y, Chen Y. 2004. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 229: 325-333

Cordova-Murueta J, Garcia-Carreño L. 2001. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture* 210: 371–384

Cousin, M, 1995. Etude de l'utilisation des glucides et du rapport proteines-energie chez deux especes de crevettes Peneides. Tesis (Ph.D). Institut National Agronomique Paris-Grignon

Cousin M, Cuzon G, Guillaume.1996. Digestibility of starch in *Penaeus vannamei*: in vivo and in vitro study on eight samples of various origin. Aquaculture 140: 361-372

Cruz-Suarez L, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, McCallum I, Hickling D. 2001. Assessment of differently processed feed pea (*Pisum sativum*) meals and canola meal (*Brassica* sp.) in diets for blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*). Aquaculture 196: 87–101.

Cuzon G, Brito A, Jiménez-Yan L, Brito R, García T, Taboada G, Gaxiola G. 2003. The effects of animal or plant-based diets on energy partitioning in selected ontogenetic stages of the shrimp *L. vannamei*. Memorias de VII Symposium Internacional de Nutrición Acuícola, Hermosillo, México, Noviembre 16-19.

Davis A , Arnold C. 2000 Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *L. vannamei*. Aquaculture 185: 291–298.

Davis A , Arnold CR. 1995. Effects of two extrusion processing conditions on the digestibility of four cereal grains for *Penaeus vannamei*. Aquaculture 133: 287-294.

Davis A, Samocha T, Bullis R, Paknait S, Browdy C, Stokes A, Atwood H. 2004. Practical diets for *L. vannamei* (Bonne, 1931). Memorias de VII Symposium Internacional de Nutrición Acuícola, Hermosillo, México, Noviembre 16-19.

Davis D, Arnold R, McCallum I, 2002. Nutritional value of feed peas (*Pisum sativum*) in practical diet formulations for *L. vannamei*. Aquaculture Nutrition 8: 87-94.

De Lange, C. F.; Mohn, S. 1996. Application of pig growth models: characterizing pig types and estimating amino acid requirements. Proc. 17th western nutrition conference, Alberta, Canada.

Divakaran S, Velasco M, Beber E, Forster I, Tacon A. 2000. Soybean meal apparent digestibility for *L. vannamei*. V Symposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, México, Noviembre 19-22

Edwards D, Austreng E, Risa S, Gjedrem T. 1977. Carbohydrate in rainbow trout diets. I. Growth of fish of different families fed diets containing different proportions of carbohydrate. *Aquaculture* 11: 31-38.

Eusebio P. 1991. Effect of dehulling on the nutritive value of some leguminous seeds as protein sources for tiger prawn, *Penaeus monodon*, juveniles. *Aquaculture* 99: 297-309

Faucon M. 1997. Contribution to the low pollution feeds for juveniles of *L. stylirostris*. Report Ifremer COP: 22.

Fenucci JL., Fenucci, AC., Lawrence, AL., Zein Eldin, Z. 1982. The assimilation of protein and carbohydrate from prepared diets by the shrimp *L. stylirostris*. *Journal World Aquaculture Society* 13, 134-135.

Forster I, Dominy W, Obaldo L, Tacon A. 2003. Rendered meat and bone meals as ingredients of diets for shrimp *L. vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture* 219: 655–670.

Fox J, Lawrence A, Li-Chanb E. 1995. Dietary requirement for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources. *Aquaculture* 131: 279-290.

Fox J, Lawrence A, Smith F. 2004. Development of a low-fish meal feed formulation for commercial production of *L. vannamei*. *Memorias de VII Symposium Internacional de Nutrición Acuícola*, Hermosillo, México, Noviembre 16-19.

Fraser Suzi. 2005. Peas in aquaculture feeds [internet]. *Aquafeed*. Disponible en el sitio de red: <http://www.aquafeed.com/article.php?id=1330§ionid=> Revisado el 18 de junio del 2005.

Furuya M, Pezzato L, Barros E, Pezzato M, Furuya R, Miranda M. 2004. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Aquaculture* 35: 110-116.

García-Casas, I, 1990. Response of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* to virus supplemental feeding regimen in semi-intensively managed earthen ponds in Honduras. Tesis (Master). Auburn University.

Garson G, Pretto R, Rouse D. 1986. Effects of manures and pelleted feeds on survival, growth, and yield of *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei* in Panamá. *Aquaculture* 59: 45-52.

Gaxiola G, Arena L, Brito A, Garfias S, Maldonado C, Arevalo M , Taboada G , Cuzon G. 2005. Alimentos amigables con el ambiente en el cultivo de *L. vannamei*. Capítulo Latinoamericano de la Sociedad Americana de Acuicultura, Mérida, México. Septiembre 12-14.

Gitterle T, Rye M, Salte R, Cock J, Johansen H, Lozano CA, Suárez JA, Gjerde B. 2005. Genetic (co)variation in harvest body weight and survival in *Penaeus (L.) vannamei* under standard commercial conditions. *Aquaculture* 243: 83–92.

Glencross D, Smith M, Thomas R, Williams C. 2003. The effects of dietary lipid amount and fatty-acid composition on the digestibility of lipids by the prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 205: 157– 169.

Godin M, Carr H, Hagino G, Segura F, Sweeney J, Blankenship L. 1996. Evaluation of a fluorescent elastomer internal tag in juvenile and adult shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 139: 243–248.

Goytortúa E, Civera R, Green A. 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *L. vannamei*. Effects on growth and in vivo digestibility. *Aquaculture* 256:414-422.

Hei-zhao L, Zhixun G, Yingying Y, Wenhui Z, Zhuojia L. 2004. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *L. vannamei*. *Aquaculture research* 35: 1441-1447.

Hei-Zhao L, Zhuo-Jia L, Yong-Qing C, Wen-Hui Z, Keng Y. 2005. Effect of dietary traditional Chinese medicines on apparent digestibility coefficients of nutrients for white shrimp *L. vannamei*. *Aquaculture* 253:495-501.

Hertrampf J, Piedad-Pascual F. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Kluwer Academic Publishers: The Netherlands, pp 573.

Jiménez-Yan, 2004. Alimentos amigables con el ambiente y su efecto en el crecimiento, supervivencia y estado fisiológico de las postlarvas de *L. vannamei*. Tesis (Licenciatura). Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Jones L, De Silva S.1998. Comparison of internal and external markers in digestibility studies involving the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* Clark (*Decapoda, Parastacidae*). *Aquac. Res.* 29: 487–493.

King, D, 2004. *Implications of the replacement of fish meal in diets for tropical aquaculture species on nutrition and feed formulation* [internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.laegamefishing.org.pg/Stori_DanielKingsPaper.PDF. [Revisado el 7 de mayo de 2004].

Kleveland E, Ruyter B, Vegusdal A, Sundvold H, Berge R, Gjoen T. 2006. Effects of thia fatty acids on expression of some lipid related genes in atlantic salmon. XII simposium internacional de nutrición en peces. Biarritz. Francia. Mayo 20-Junio 1

Kolditz C, Lefevre F, Borthaire M, Quillet E, Medale F. 2006. Metabolic pathways involved in nutritional and genetic determinism of fat storage allocation in body compartments of rainbow trout: Gene, candidates and liver proteome, analysis. XII simposium internacional de nutrición en peces. Biarritz. Francia. Mayo 20-Junio 1

Koong J, Nienaber J, Mersmann J. 1983. Effects of plane of nutrition on organ size and fasting heat production in genetically lean and obese pigs. *J. Nutr.* 113: 1626-1631.

Kumaraguru V, Ramesh S, Balasubramanian T. 2005. Dietary value of different vegetable oil in black tiger shrimp *Penaeus monodon* in the presence and absence of soy lecithin supplementation: Effect on growth, nutrient digestibility and body composition. *Aquaculture* 250: 317– 327

Kumlu M, Jones D. 1995. The effect of live and artificial diets on growth, survival and tripsin activity in larvae *Penaeus indicus*. *J. World Aquacult. Soc.* 26: 406-415.

Kurmaly K, Jones D, Yule D, East J. 1989. Comparative analysis of the growt and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae from protozoal to postlarval 1, on live feeds, artificial diets and on combination of both. *Aquaculture* 81: 27-45.

Le Moullac, G., Wormhoudt, A.V. and AQUACOP. 1994. Adaptation of digestive enzyme to dietary protein, carbohydrate and fiber levels and influence of protein and

carbohydrate quality in *Penaeus vannamei* larvae (Crustacea: Decapoda). *Aquatic Living Resources*, 7, 203-210.

Le Vay L, Rodríguez A, Kamarudin M, Jones D. 1993 Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture* 118: 287-297.

Leavitt D. 1985. An evaluation of gravimetric and inert marker techniques to measure digestibility in the American lobster. *Aquaculture* 47:131– 142.

Lee P, Lawrence A. 1997. Digestibility. In: *Crustacean Nutrition*, D'Abramo L, Conklin D, Akiyama D (eds). *World Aquaculture*:Baton Rouge, pp 194–260.

Lim C, Klesius P, Dominy W. 1998. Soyabean products. *Int. Aqua Feed* 3: 17–23.

Lim C, Klesius P, Higgs D. 1998. Substitution of canola meal for soybean meal in diets for channel catfish. *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquaculture Soc.* 29:161 168.

Lim C, Dominy R, Eales J, Prendergast A, McLeese J, Shearer K, Higgs D. 1990. Nutritive values of low and high fiber canola meals for shrimp. *Aquaculture Nutrition*. 3:269-279.

Lovett L, Felder D. 1990a. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178: 144-159.

Lovett L, Felder D. 1990b. Ontogenetic Changes in Enzyme Distribution and Midgut Function in Developmental Stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol Bull* 178:160-174.

Mendoza R. 1993. Métodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos destinados a los organismos acuáticos. En: *Memorias del primer simposium internacional de nutrición y tecnología de alimentos para acuicultura*, Cruz-Suarez, Mendoza R, Ricque D (eds). *Universidad Autónoma de Nuevo León: Monterrey*, pp 155-202.

Mignon-Grastea S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Peron A, Sellier N, Mollet N, Besnard J, Hallouis J, Carre B. 2004. Heritability of digestibilities and divergent

selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poultry Science* 83:860–867.

Millamena O, Bautista M, Kanazawa A. 1996. Methionine requirement of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 143: 403–410.

Millamena O, Bautista M, Reyes O, Kanazawa A. 1998. Requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* for lysine and arginine. *Aquaculture* 164:95–104.

Morales A, Cardenet G, Sanz A, Higuera M. 1999. Re-evaluation of crude fiber and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 179:71-79.

Mwachireya S, Beames R, Higgs D, Dosanjh B. 1999. Digestibility of canola protein products derived from the physical, enzymatic and chemical processing of commercial canola meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) held in fresh water. *Aquaculture Nutrition*. 5:73-82.

Noblet JC, Karege C, Dubois S. 1991. Influence of growth potential on energy requirements for maintenance in growing pigs. In: *Energy metabolism in farm animals*, Wenk C, Boessinger W, (eds). Zurci, pp 107.

NRC, 1981. *Nutrient Requirements of Fish*. National Research Council, Washington, DC: National Academy Press.

Piedad Pascual F, Cruz E, Sumalangcay A. 1990. Supplemental feeding of *Penaeus monodon* juveniles with diets containing various levels of defatted soy-bean meal. *Aquaculture* 95: 183-191.

Refstie T, Austreng E. 1981. Carbohydrate in rainbow trout diets. Growth and chemical composition of fish from different families fed four levels of carbohydrate in the diet. *Aquaculture* 25: 35-49.

Rodríguez A, Le Vay L, Jones D. 1994. Biochemical composition and digestive activity in larvae and postlarva of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Marine Biology* 118: 45-51.

Samocha T, Davis A, Soud P, DeBault K. 2004. Substitution of fish meal by co-extruded soybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *L. vannamei*. *Aquaculture*. 231: 197-203.

Sanchez M, Chevassus B, Labbé L, Quillet E, Mambrini M. 2001. Selection for growth of brown trout (*Salmo trutta*) affects feed intake but not feed efficiency. *Aquatic Living Resource* 14: 41-98.

SAS® 9.1.3 Copyright 2002-2005. SAS Institute Inc. Neuenheimer Landstr.28-30. Heidelberg, Germany.

Shiau S, Chen M. 1992. Carbohydrate utilisation by tilapia (*Oreochromis niloticus*_O. aureus) as influenced by different chromium sources. *J. Nutr.* 123: 1747–1753.

Smith D, Tabrett S. 2004. Accurate measurement of *in vivo* digestibility of shrimp feeds. *Aquaculture* 232: 563–580.

Smith D, Dall W, 1985. Moulting staging the tiger prawn *Penaeus esculentus* . In: Second Australian National Seminar, Rothlisberg P, Hill B, Staple D. (eds.) Cleveland, pp. 85-95.

Smith D, Tabrett S, Sarac H. 1999. Fish meal replacement in the diet of the prawn *Penaeus monodon*. In: Book of abstracts of the World Aquaculture. Society Annual Meeting '99, World Aquaculture (eds). Society Annual Meeting '99, Sydney, Australia, April 26–May 2.

Sudaryono A, Tsvetnenko E, Hutabarat J, Evans L. 1999. Lupin ingredients in shrimp *Penaeus monodon* diets: influence of lupin species and types of meals. *Aquaculture* 171:121–133.

Tacon A. 1990. *Standar Methods for the Nutritional and Feeding of Farmed Fish and Shrimp*. Argent Laboratories Press: Washington.

Tacon A, Akiyama D. 1997. Feed ingredients. In: *Crustacean Nutrition*, D'Abramo L, Conklin D, Akiyama D (eds). *World Aquaculture*: Baton Rouge, pp. 411-472.

Tacon A, Barg U. 1998. Major challenges to feed development for marine and diadromous finfish and crustacean species. In: Tropical Mariculture, De Silva S. (eds). Academic Press: San Diego, pp. 171–208.

Thiessen D. 2004. Optimization of feed peas, canola and flaxseed for aquafeeds; the Canadian prairie perspective. Memorias de VII Symposium Internacional de Nutrición Acuícola, Hermosillo, México, Noviembre 16-19.

Thodesen J, Storebakken T, Shearer K, Rye M , Bjerkeng B ,Gjerde B. 2001. Genetic variation in mineral absorption of large/ Atlantic salmon *Salmo salar* reared in seawater. Aquaculture 194: 263–271.

Thong HT, Liebert F. 2004. Amino acid requirement of growing pigs depending on amino acid efficiency and level of protein deposition. 2nd communication: Threonine. Animal Nutrition 58(2):157-168

RESUMEN BIBLIOGRÁFICO

Jorge Arturo Suárez Navarrete

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Alimentos

Tesis: DISTRIBUCIÓN DE LA ENERGÍA Y ANÁLISIS DE CRECIMIENTO EN GRUPOS FAMILIARES SELECCIONADOS GENETICAMENTE DEL CAMARÓN *L. vannamei* (Boone, 1931) ALIMENTADOS CON FUENTES DE PROTEÍNA VEGETAL

Campo de estudio: Ciencias biológicas

Datos personales: Nacido en Bogotá, Colombia el 16 de Junio de 1966, hijo de Jorge Enrique Suárez y María Stella Navarrete

Educación: Egresado de la Universidad de Bogota Jorge Tadeo Lozano, grado obtenido Biólogo Marino.

Experiencia profesional: Investigador de Tiempo Completo de la Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia (CENIACUA) desde 1995.