UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR

ÁREA DE CONOCIMIENTOS DE CIENCIAS DEL MAR

DEPARTAMENTO ACADEMICO DE BIOLOGÍA MARINA

USO DE UNA HARINA DE SUBPRODUCTOS DE ALMEJA CATARINA *ARGOPECTEN VENTRICOSUS* (SOWERBY II ,1842) COMO FUENTE DE PROTEÍNA EN ALIMENTOS PARA EL CAMARÓN *LITOPENAEUS VANNAMEI*. EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIGESTIBILIDAD.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIÓLOGO MARINO

PRESENTA

ARMANDO REYES BECERRA

LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR. ENERO DE 2011

RESUMEN

Se determinó el valor nutricional de una harina de subproductos de almeja Catarina *Argopecten ventricosus* (HSAC) al ser utilizada como fuente de proteína alterna a la harina de pescado en alimentos para juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei.* Se fabricaron cinco dietas experimentales: una control con 35% de proteína (aportada principalmente por harina de pescado) y cuatro dietas en las que la HSAC sustituyó 25%, 50%, 75% y 100% de la proteína de la harina de pescado (Dietas 25%sSus, 50%Sus, 75%Sus y 100%Sus, respectivamente). El sistema de cultivo consistió en acuarios de 60 L, con alimentación de agua filtrada y esterilizada, aireación, control de fotoperiodo y temperatura constantes. Se realizó un bioensayo de crecimiento, utilizando camarones con peso promedio inicial de 0.45 ± 0.01 g a una densidad de 10 organismos por acuario, con cuatro réplicas por tratamiento alimenticio. El bioensayo tuvo una duración de 45 días. La supervivencia final fue superior a 87.5%. El peso final de los organismos varió de 3.27g a 3.83g, y la tasa de crecimiento de 637.5% a 759.5%, para las dietas 100%Sus y la Control, respectivamente. No se detectaron, diferencias significativas ($p>0.05$) entre ninguno de los tratamientos. El alimento consumido fue mayor con la dieta control que con la dieta 100Sus (0.17 y 0.11 mg/org/día). La misma tendencia se observó en la proteína ingerida y en el factor de conversión alimenticia. La eficiencia proteica fue más elevada al utilizar la harina de subproductos de almeja en las dietas, alcanzándose el valor de 1.68 con la dieta 100%Sus. Posteriormente, y con los mismos organismos, se realizó un experimento para determinar la digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca y nutrientes en los alimentos utilizados en el bioensayo de crecimiento. Para ello, se utilizó el método indirecto, utilizando oxido de crómico como marcador. Cada alimento fue evaluado por cuadriplicado, con 5 organismos por acuario. El bioensayo tuvo una duración aproximada de 45 días o hasta colectar aprox. 15 g de heces en cada acuario. Los coeficientes de digestibilidad más elevados se obtuvieron con la dieta 50%Sus: materia seca (84.7%), proteína (92.9%), lípidos (85.1%) y carbohidratos (98.0%) siendo mayores ($p<0.05$) a los de la dieta control. Se registró un aumento de la digestibilidad aparente de materia seca y nutrientes conforme fue aumentando la inclusión de la HSAC en el alimento, hasta el nivel de 50% de sustitución, por arriba del cual la digestibilidad se mantuvo al mismo nivel (proteína y carbohidratos) o llegó a disminuir (lípidos). Los resultados demuestran que la

harina de subproductos de almeja Catarina puede ser utilizada como sustituto parcial o total de la harina de pescado en el alimento, ya que su inclusión en el alimento no afectó de manera significativa el crecimiento de los juveniles de camarón blanco, y permitió mejorar la digestibilidad aparente de los alimentos.

”La muerte no nos roba los seres amados. Al contrario, nos los guarda y nos los inmortaliza en el recuerdo”.

François Mauriac

A LA MEMORIA DE JUANA MORENO MATUS†, GRACIAS POR TANTO CARIÑO

DEDICATORIA

A MIS PADRES

ARMANDO REYES MORENO, GUADALUPE BECERRA MUJICA

Que siempre han estado conmigo en aciertos y equivocaciones.

Gracias por su amor y apoyo sin ustedes no estaría aquí.

A MI HERMANA

WENDY ELENA REYES BECERRA

Junto con esos angelitos que siempre están en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Roberto Civera Cerecedo, por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, por su confianza, paciencia, experiencia científica y amistad, fundamentales para concretar este escrito.

A Ernesto Goytortúa Bores del laboratorio de Nutrición acuícola por su gran ayuda y apoyo en el transcurso de este escrito.

A ti que has sido parte de mi vida por todo el amor brindado, por tu apoyo incondicional sobretodo en el transcurso de esta tesis, eres un orgullo para mí. Gracias Sarai.

Al personal técnico de los laboratorios del CIBNOR:
Análisis Químico Proximal: Sonia Guadalupe Rocha Meza y María Dolores Rondero Astorga. Nutrición Experimental: Sandra de la Paz Reyes y Carlos Ernesto Ceseña. Pigmentos: Francisco Eduardo Hernández Sandoval. Gracias por todas las facilidades brindadas en los análisis de muestras y en el desarrollo de los experimentos.

Al Dr. Eliseo Alcántara y a la empresa Malta Cleyton de México por la beca otorgada dentro del proyecto Desarrollo de alimentos balanceados, formulados a proteína y aminoácidos digestibles, para juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* cultivado en condiciones de alta salinidad en el Noroeste de México.

Por el financiamiento para realizar el presente estudio, por parte del proyecto CIBNOR AC 2.4 "Desarrollo de alimentos balanceados para camarón, a través de uso de aditivos e ingredientes de alta calidad nutricional", bajo la responsabilidad del Dr. Roberto Civera Cerecedo.

A la Universidad Autónoma de Baja California Sur por permitirme realizar mis estudios de licenciatura.

A mi comité revisor: Dr. Carlos Cáceres Martínez, Dr. Carlos Rangel Dávalos por sus valiosas sugerencias y opiniones.

A mis compañeros de Nutrición Acuícola: Margarita Herrera Andrade, Liliana Ramírez López, Ranferi Gutiérrez Leyva, Erika Torres Ochoa, Manuel Martín Terrazas Fierro, Alfonso Galicia González, Martha Rivas Vega.

A todos ustedes que en su momento estuvieron, llegaron y tal vez se fueron, por empezar este largo camino: Marina mi hermana, Martha† por todas esas consejos y patadas, Xime, Karmina, al gran Geremi por todas esas noches bohemias. A Mayra Chavira, si tu también Mayra Gutiérrez, Mirna, Fabis, Sarai, Barbara, Lucia, Coco. Banda son únicos como olvidarlos Edgarito, Pablo, Mauro…mi Lic., Roberto ese manito, Jorge (pollo), Emmanuel, Kato y Oso eres único, Nachito, en verdad da gusto conocer personas como ustedes, gracias por haberse cruzado en mi camino.

A la vida que siempre te da sorpresas y a los sueños que nunca hay que dejarlos ir……

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN i

DEDICATORIA iv

AGRADECIMIENTOS v

ÍNDICE DE TABLAS x

ÍNDICE DE FIGURAS xii

1. INTRODUCCION 1

1.1 Acuicultura y cultivo de camarón. 1

2. ANTECEDENTES 6

2.1 Requerimientos nutricionales de los camarones peneidos. 6

2.2 Uso de productos marinos como ingredientes en alimentos para camarón 10

2.3 Usos de productos de almeja como ingredientes en la nutrición de organismos acuáticos. 11

2. JUSTIFICACIÓN 14

3. HIPÓTESIS 15

4. OBJETIVOS 16

4.1 Objetivo General 16

4.2 Objetivos Particulares 16

5. MATERIAL Y MÉTODOS 17

5.1 Organismos experimentales 17

5.2 Ingredientes y materias primas 17

5.3 Recolecta y manejo de los subproductos de almeja Catarina. 18

5.4 Fabricación de la harina de subproductos de almeja Catarina 18

5.5 Formulación y fabricación de alimentos 20

5.6 Lixiviación. 23

5.7 Sistema de cultivo 24
5.7 Bioensayo de Crecimiento 26
5.7.1 Diseño experimental y condiciones de cultivo. 26
5.7.1 Criterios de evaluación 27
5.7.2 Análisis estadísticos 28
5.8 Ensayo de digestibilidad aparente *in vivo* 29
5.8.1 Diseño experimental y condiciones de cultivo. 29
5.8.2 Colecta y procesamiento de heces 29
5.8.3 Análisis químicos proximales de ingredientes 30
5.8.4 Análisis químicos. 30
5.8.5 Criterios de evaluación 34
5.8.6 Análisis estadísticos 35
6. RESULTADOS 36
6.1 Composición química proximal de los ingredientes 36
6.2 Composición proximal de los alimentos experimentales. 37
6.3 Bioensayo de crecimiento 39
6.3.1 Parámetros fisicoquímicos del agua. 39
6.3.2 Resultados Zootécnicos. 39
6.4 Ensayo de digestibilidad aparente *in vivo* 45
6.4.1 Parámetros fisicoquímicos del agua. 45
6.4.2 Coeficientes de utilización digestiva aparente 45
7. DISCUSIÓN 51
7.1 Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de la harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, sobre el crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei*. 51

7.2 Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, sobre la digestibilidad de nutrientes en juveniles de *Litopenaeus vannamei*. 57

8. CONCLUSIONES 61

9. RECOMENDACIONES 62

10. BIBLIOGRAFÍA 63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.Comparativo de producción y rendimiento anual de camarón cultivado en el Estado de B.C.S. en 2009 (Comité de Sanidad Acuícola de Baja California Sur, A.C.). 2

Tabla 2. Serie Histórica de la producción de almeja* en peso vivo para Baja California Sur. (2004-2008). CONAPESCA, 2008. 3

Tabla 3. Serie Histórica de la producción de almeja catarina en peso desembarcado y vísceras para Baja California Sur (2006-2010). Subdelegación de Pesca-SAGARPA*, 2010. 5

Tabla 4. Composición de los alimentos experimentales (g/100 g de alimento) utilizados para medir el crecimiento y la digestibilidad aparente *in vivo*. en juveniles de *L.vannamei*. 21

Tabla 5. Composición de la premezcla de vitaminas. 22

Tabla 6. Composición de la premezcla de minerales. 22

Tabla 7. Composición química proximal* (g/100 g de materia seca, excepto humedad) y de energía de los macroingredientes utilizados en la fabricación de los alimentos experimentales. 36

Tabla 8. Composición química proximal* (g/100 g de materia seca, excepto humedad), de energía bruta (cal/g) y estabilidad en el agua (%) de los alimentos utilizados para evaluar la calidad nutricia de la harina de subproductos de almeja para juveniles de *L. vannamei*. 38

Tabla 9. Resultados zootécnicos de juveniles de camarón banco *L. vannamei* alimentados durante 45 días con alimentos donde se sustituyó, a diferentes niveles, la proteína de harina de pescado con harina de subproductos de almeja Catarina. 40

Tabla 10. Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (promedio ± desviación estándar) de materia seca, proteína, lípidos, y carbohidratos de los alimentos experimentales. 46

Tabla 11. Perfil de aminoácidos esenciales (g/100g de materia seca) de las harinas de pescado y subproductos de almeja Catarina (tomado y adaptado de Terrazas-Fierro, 2010). 52

Tabla 12. Digestibilidad aparente (% ± desviación estándar) de materia seca (DAMS) y proteína (DAP) de las harinas de pescado y subproductos de almeja Catarina (tomado y adaptado de Terrazas-Fierro, 2010). 53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía general de los pectínidos (Beninger y Le Pennec 1991, tomado de Maeda-Martínez, 2002). 6

Figura 3. Sistema de cultivo utilizado para la evaluación de los alimentos en el laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR (tomado de Galicia-González, 2001). 25

Figura 4. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre el peso final (g) de juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 41

Figura 5. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la tasa de crecimiento (%) en juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 41

Figura 6. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la supervivencia de juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 42

Figura 7. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre el alimento consumido (mg/org/día) por juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 42

Figura 8. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la proteína ingerida (mg/org/día) por juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 43

Figura 9. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre el factor de conversión alimenticia (FCA) en juveniles de *L. vannamei,* al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 43

Figura 10. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la eficiencia proteica (EP) en juveniles de *L. vannamei,* al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 44

Figura 11. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Materia Seca en juveniles de *L. vannamei.* Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 47

Figura 12. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Proteína en juveniles de *L. vannamei.* Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 48

Figura 13. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Lípidos totales en juveniles de *L. vannamei.* Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 49

Figura 14. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Carbohidratos totales en juveniles de *L. vannamei*. Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). 50

1. INTRODUCCION

1.1 Acuicultura y cultivo de camarón.

La producción mundial de la pesca de captura y la acuicultura proporcionó cerca de 110 millones de toneladas de pescado para consumo humano en el año 2006, equivalente a un suministro de 16,7 kg per cápita (equivalente en peso vivo), cifra que se encuentra entre las más elevadas registradas hasta el momento, de la cual el 47 % correspondió a la acuicultura, que sigue creciendo más rápidamente que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal, y a mayor ritmo que la población.(FAO 2008).

Los crustáceos, y en particular los camarones peneidos, ocupan un lugar destacado en la acuicultura a escala mundial debido a los buenos precios que mantienen en el mercado internacional, motivo por el cual han recibido la mayor atención en cuanto a experiencias de cultivo e investigación científica. Actualmente en México, el volumen de la producción acuícola en el año 2008 en peso vivo fue de 283,625 toneladas siendo el camarón el mayor representante en volumen con 130,201 toneladas en peso vivo (SAGARPA, Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2008), correspondiendo 3,504 toneladas para Baja California Sur (Comité de Sanidad Acuícola de B.C.S., 2009).

Baja California Sur es el Estado con mayor litoral del país (2,705 km de litoral, 23% del total nacional) y con un gran potencial de desarrollo. Hasta el año 2001, Baja California Sur contaba con apenas 10 hectáreas para el cultivo de camarón. En 2004 este número ascendió a 350 hectáreas, lo que significa un crecimiento de 350% (Tabla 1); para el 2006 se utilizaron cerca de 700 hectáreas, un 100% más de crecimiento. Antes del año 2001 el Estado nunca había alcanzado una producción que llegara a las 100 toneladas, sin embargo, en 2005 cerró con una producción de 2,500 toneladas (Durán-Riveroll, 2006), y ésta tendencia continuó en el 2008 ya que se llegó a 3,504 toneladas, cifra histórica en un Estado que inicia con esta actividad a gran escala.

Tabla 1.Comparativo de producción y rendimiento anual de camarón cultivado en el Estado de B.C.S. en 2009 (Comité de Sanidad Acuícola de Baja California Sur, A.C.).

Año	Superficie (Ha)	Producción (Tons)	Rendimiento (Ton/Ha)
2004	253	899	3.55
2005	677	2,441	3.61
2006	577	2,469	4.28
2007	612	3,107	5.05
2008	643	3,504	5.44
2009	618	3,494	5.65

Dentro de las granjas camaroneras, la alimentación es un factor decisivo para el desarrollo exitoso del cultivo, y representa el costo de producción más elevado en los cultivos semi-intensivos e intensivos, ya que puede variar del 50% al 70% del total de los gastos variables de producción. Para que el cultivo sea rentable y sostenible es necesario tomar en cuenta como factores críticos la calidad y el costo del alimento (Cruz-Suárez *et al.*, 2002, Akiyama, 1991).

En los alimentos comerciales para camarón, se incluye a las harinas de pescado (25% a 50% del total del alimento), debido a sus cualidades nutricionales (Amaya *et al.*, 2007). Uno de los factores considerados para reducir los costos de la producción de camarones e incrementar ganancias, es el uso de alimentos con niveles bajos de harina de pescado y altos niveles de fuentes proteicas de calidad y bajo costo (Amaya *et al.*, 2007; Suárez *et al.*, 2009), ya que la proteína es considerada el nutriente más importante debido al papel que juega en el crecimiento de los organismos, y a su elevado costo. La mayoría de los alimentos comerciales para camarón contienen de 25 a 65 % de proteína aportada principalmente por la harina de pescado (Civera *et al.*, 1998). Sin embargo, la alta demanda de estas harinas, y en especial, las utilizadas en la fabricación de alimentos para la acuicultura han provocado el alza de los precios, alcanzándose valores por encima de 1,000 USD por tonelada en estos últimos años. Datos de la FAO indican que durante los últimos 20 años la producción de harina de pescado se ha mantenido constante y no se prevé que tenga un incremento (FAOSTAT, 2009).

Dada la tecnología disponible para la alimentación de camarones, adaptada a las exigencias comerciales, la demanda de harina de pescado para la acuicultura seguirá aumentando en el futuro próximo, y para que el cultivo de camarón sea rentable y sostenible, es necesario el desarrollo de ¨alimentos compuestos¨ de alto valor nutrimental con ingredientes de bajo precio y con disponibilidad (Sudaryono *et al.*, 1995). Entre las proteínas que se pueden utilizar para sustituir a la harina de pescado, ya sea parcial o totalmente, se incluyen aquellas de origen vegetal, animal y subproductos, procedentes de la industria de procesado de alimentos. Se han evaluado con éxito ingredientes proteicos alternos para reemplazar parcialmente a la harina de pescado en alimentos para camarón, ejemplo de ellos son la harina de langostilla (Goytortúa-Bores *et al.*, 2006), el frijol yorimón (Rivas-Vega, 2006) y la pasta de cártamo (Galicia-González, 2009) así como otras fuentes proteicas vegetales a partir de Macrocystis y Sargassum (Gutiérrez-Leyva, 2006).

Baja California Sur cuenta recursos pesqueros vastos, en las aguas que la circundan; se han identificado 650 especies que pueden utilizarse para consumo humano e industrialización. Actualmente, se explotan 122 grupos de especies comestibles, entre las que destacan la sardina, los túnidos y los moluscos. Uno de las principales recursos en el Estado de Baja California Sur es la pesquería de almeja; la producción nacional en el año 2008 fue de 28,276 TM en peso vivo, periodo en el cual el litoral del Pacífico tuvo una producción mayor al 85% de la producción nacional, y B.C.S. el 70% de la captura total de almejas a nivel nacional (Tabla 2).

Tabla 2. Serie Histórica de la producción de almeja* en peso vivo para Baja California Sur. (2004-2008). CONAPESCA, 2008.

Año	**Producción (Toneladas)**
2004	15,311
2005	19,257
2006	21,716
2007	18,724
2008	20,948

*Cifras agregadas de distintas especies de almejas.

Cabe destacar que la almeja Catarina (*Argopecten ventricosus*) es la especie de mayor importancia comercial (Casas-Valdez *et al.*, 1996). Su distribución comprende el litoral del Océano Pacífico, y las principales zonas de captura son: Bahía Magdalena y Bahía Almejas, en el municipio de Comondú en Baja California Sur. La especie está considerada para su administración bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-004-PESC-1993, donde se establece una época de veda, talla mínima de captura (temporada de captura Abril a Diciembre, 56 mm - 60 mm)(SEIPABCS, 2010).

Aproximadamente, el 30% de la producción se destina al mercado nacional y el restante 70% se comercializa en los Estados Unidos. Actualmente, el producto principal comercializable es el músculo abductor, conocido como callo, cuya distribución se realiza en fresco-enhielado o congelado (Villalejo-Fuerte, 1992) siendo estas la de mayor demanda, el precio de comercialización en B.C.S. es de $70.00 pesos el kilo (Peninsular Digital, 2010).

El subproducto resultante de la separación manual del callo, es la víscera de almeja (olán, intestino, gónada, Fig. 1) la cual puede utilizarse para la elaboración de cremas (García-Ortega, 1988), ensilados (Ojeda-Ruíz de la Peña, 1992), sopas, machaca, escabeche, paté y embutidos para el consumo humano. También se pueden encontrar productos elaborados a partir de callo con gónada y el organismo entero con la excepción de la glándula digestiva (Maeda-Martínez, 2002) y se distribuye en el mercado bajo el nombre de callo con olán en B.C.S., también utilizada como forraje pecuario para aves y cerdos o como fuente importante de proteína para la elaboración de alimentos balanceados (Arias de León, 2002).

Una almeja viva de talla comercial (mayor a 55mm) pesa aproximadamente 60 g; a partir de ésta se obtienen 6.7 g de callo y 13 g de vísceras, por lo tanto, a partir de 8.95 TM de almeja recién cosechada, se obtiene 1 TM de callo y 1.94 TM de vísceras (Arias de León, 2002), es decir, solo se aprovecha el 32-34% del peso desconchado mientras que el 66% constituido por gónada y manto (46%) y las vísceras (20%) no son aprovechados (García-Ortega, 1988; Figura 1).

Actualmente los volúmenes como desperdicio directo del proceso de extracción de la almeja Catarina se pueden calcular (Arias de León, 2002) de tal forma que el volumen de vísceras se indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Serie Histórica de la producción de almeja catarina en peso desembarcado y vísceras para Baja California Sur (2006-2010). Subdelegación de Pesca-SAGARPA*, 2010.

Año	Producción* (Tons)	Vísceras (Tons)
2006	1,928	3,740
2007	1,634	3,170
2008	1,825	3,541
2009	456	885
ENE-SEPT 2010	1,298	2,518

*Información preliminar Subdelegación de pesca en Baja California Sur.

Aún con la gran cantidad de productos que se pueden fabricar con los subproductos de almeja Catarina, tanto la concha (Silva-Laguna, 2005), como el resto de las vísceras muchas veces son considerados un desecho por la alta demanda que genera del callo como única presentación. Los subproductos obtenidos son desechados a cielo abierto, lo que causa proliferación de moscas, bobos, gusanos, animales de rapiña, malos olores, así como erosión del suelo y alteración del paisaje (Lluch *et al.*, 2000 en Silva-Laguna, 2005). Los desechos también arrojados al mar o en su caso enterrados cerca de las zonas de desconchado (Ojeda-Ruíz de la Peña, 1993), por lo tanto, tienen efectos ambientales de consideración y además representan un enorme desperdicio de proteína.

Este subproducto pesquero cuenta con la posibilidad de utilizarse como ingrediente para la fabricación de alimentos balanceados para camarón, ya que puede ser procesado industrialmente en forma de harina u otros productos nutricios, evitando así la contaminación al ambiente.

En el presente trabajo se investigó valor nutricio de una harina de subproductos de almeja Catarina, al utilizarla como fuente de proteína alterna a la harina de pescado en alimentos para juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei.*

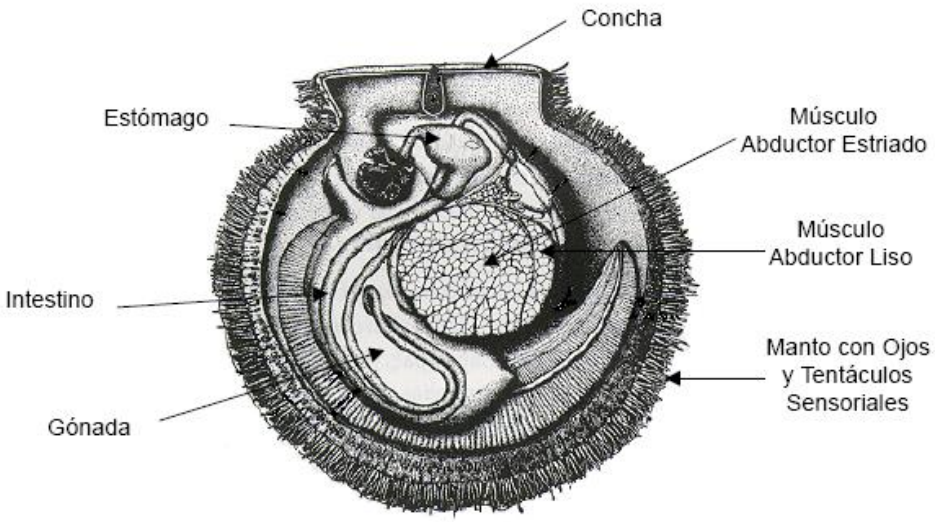


Figura 1. Anatomía general de los pectínidos (Beninger y Le Pennec 1991, tomado de Maeda-Martínez, 2002).

2. ANTECEDENTES

2.1 Requerimientos nutricionales de los camarones peneidos.

La nutrición, considerada una rama de la fisiología, estudia el conjunto de procesos químicos y fisiológicos requeridos para proporcionar al organismo la energía y los nutrientes necesarios para los procesos vitales, englobando varias etapas: comportamiento y toma alimentaria, digestión y absorción (fase digestiva), metabolismo de los nutrientes (fase metabólica), excreción y eliminación de los desechos (Akiyama y Dominy, 1989; Guillaume y Ceccaldi, 1999, Guillaume *et al.*, 2004)

La primera etapa (fase digestiva) corresponde al comportamiento del organismo sobre el alimento, incluyendo factores como la atractabilidad, palatabilidad así como la textura y estabilidad en el agua de los alimentos (Guillaume *et al.,* 2004), considerados procesos críticos para obtener tasas máximas de ingestión que permitan cubrir los niveles de nutrientes requeridos.

La calidad de los nutrimentos contenidos en el alimento es uno de los principales factores que influye en el crecimiento de los camarones (Mendoza *et al.*, 1996). Para obtener buenas tasas de crecimiento es necesario que el alimento cubra los requerimientos cualitativos y cuantitativos de nutrientes. La información sobre la digestibilidad, considerada como el balance resultante de la digestión y la absorción, es esencial para evaluar la calidad de un ingrediente. Aunque un alimento aparentemente sea una excelente fuente de nutrientes en base a su composición química, si sus nutrientes no son digeridos y absorbidos, serán de bajo valor nutricional. (Akiyama *et al.,* 1991; Sudaryono *et al.*, 1995).

La evaluación de la digestibilidad resulta esencial en la determinación de la calidad de un alimento (Cruz-Suárez, 1996; Akiyama *et al.*, 1993). Adicionalmente, el conocimiento de la digestibilidad de las materias primas permite realizar una formulación más precisa de la dieta, pudiendo disminuir la cantidad de proteína o bien utilizar fuentes de proteína de menor costo reduciendo así substancialmente el precio del alimento (Cruz-Suárez *et al.,* 2002).

La medición de la digestibilidad se puede realizar con dos métodos: directo o indirecto. El método directo implica la medición de la totalidad del alimento ingerido y de las heces correspondientes a una o varias comidas, lo cual se complica en el medio acuático. Por ello, surge el método indirecto, que no implica la medición total de la ingesta alimenticia ni la colecta total de heces, su función reside en la utilización de un marcador inerte, no digerible y no absorbible, incluido en los alimentos. El aumento de la concentración del marcador, en comparación con la de los nutrientes, permite cuantificar la desaparición de estos nutrientes, y esta desaparición se equipara con la digestión y la absorción (Galicia-González, 2009).

El óxido crómico (Cr_2O_3) es un marcador inerte indigerible usado en estudios de digestibilidad aparente *in vivo,* que no afecta a los procesos de digestión y el aprovechamiento de los nutrimentos, y por lo general, es incorporado en el alimento a bajos niveles de inclusión (0.5% a 1%) (Guillaume *et al.*, 2004).

Dentro de la fase metabólica, se incluyen el conjunto de procesos bioquímicos, caracterizada por la retención (resultante entre absorción y excreción) de un compuesto en el peso corporal. Los principales nutrientes utilizados por los camarones son los siguientes: proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales.

Proteínas:

Las proteínas son compuestos orgánicos nitrogenados complejos, constituidos por aminoácidos, que son nutrientes indispensables para la estructura y funcionamiento de los organismos y son utilizadas continuamente por el organismo para el crecimiento basal y reparación de tejidos. Para el camarón, se recomiendan alimentos que incluyan a los 10 aminoácidos considerados como esenciales: metionina, arginina, treonina, triptofano, histidina, isoleucina, leucina, lisina, valina y fenilalanina (Tacón, 2002). El requerimiento mínimo en proteína cruda reportado para juveniles de *L. vannamei* es de 30% en el alimento, dependiendo de las condiciones de cultivo, pero varía en función de la edad del organismo (Guillaume, 1999).

Lípidos:

Los lípidos son biomoléculas orgánicas insolubles en el agua, formadas por una combinación especial de carbono, hidrógeno y oxígeno (Schenider, 1985). Son una fuente importante de energía altamente digerible, sirven como transportadores de las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) y son una fuente de ácidos grasos esenciales (EFA), fosfolípidos, esteroles y carotenoides, necesarios para el crecimiento, la supervivencia y la función metabólica.

Cinco ácidos grasos se consideran esenciales para camarones: linoléico(n-6),, linolénico(n-3), araquidónico, eicosapentaenoico (n-3) y docosahexaenoico(n-3), cabe destacar que los camarones tienen una limitada habilidad para sintetizar las familias de

ácidos grasos n-3 y n-6, y por ello se requieren en su dieta. EL nivel recomendado de lípidos totales en alimentos de camarón varían a lo largo de la vida del animal; los valores van desde 6,0% hasta 7,5% (Akiyama *et al.* 1991); aunque se podría utilizar hasta un máximo de 10% (González Félix y Pérez Velázquez, 2002).

Carbohidratos:

Los carbohidratos son compuestos de carbono, hidrógeno, y oxígeno (Schneider, 1985), se incluyen en azúcares simples o monosacáridos, disacáridos y los polisacáridos (almidón, glucógeno y celulosa), son utilizados principalmente como fuente de energía metabólica directa, pero su utilización y metabolismo por el camarón es limitada (Rosas *et al.*, 2000) además se usan como reserva de glucógeno, en la síntesis de quitina, ácidos nucleicos y en la formación de esteroides y de ácidos grasos (Cruz-Suárez *et al.*, 1994). Dentro de las formulaciones, los almidones son frecuentemente usados como una fuente excelente de carbohidratos y para ligar los ingredientes.

Vitaminas y minerales:

Las vitaminas son nutrientes orgánicos que se presentan en alimentos naturales y son requeridas en cantidades pequeñas, consideradas esenciales para el crecimiento, mantenimiento, reproducción y mecanismos de defensa. Los camarones requieren de quince vitaminas, cuatro liposolubles; Vitamina A, D, E, y K, y once vitaminas hidrosolubles: tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, biotina, ácido fólico, cianocobalamina, inositol, colina y ácido ascórbico. Como su nombre lo indica, las vitaminas liposolubles son absorbidas en el tracto gastrointestinal en la presencia de grasas, por el contrario, las vitaminas hidrosolubles, no son almacenadas en cantidades significativas en los tejidos de los camarones, por lo cual, en ausencia de un suministro continuo, las reservas son rápidamente consumidas (Tacon, 1989).

Los minerales tienen funciones estructurales y metabólicas, proceden de los alimentos, y también pueden ser aportados por el agua de mar por intercambio entre las membranas branquiales (Tacon, 1990; Shiau, 1998). Se clasifican en 2 grupos denominados

macrominerales y microminerales (elementos traza) que suelen actuar como co-enzimas (Cervantes y Hernández, 2007). Los macrominerales esenciales para los camarones son el fósforo, potasio, magnesio y calcio, y los microminerales son hierro, zinc, manganeso, cobre, selenio y yodo. En general, los requerimientos de vitaminas y minerales están en función del tipo de cultivo, así como de la especie, talla, ambiente, y estrés fisiológico (Fenucci *et al.,* 2004).

2.2 Uso de productos marinos como ingredientes en alimentos para camarón

Paralelamente al crecimiento de la industria, existe una expansión en la producción de alimento (Tacon *et al.,* 2000). Debido a que dicho insumo produce el mayor costo, es importante mantener constante la calidad de los ingredientes utilizados, que es la principal limitante en la producción (Akiyama *et al.,* 1991). El uso de subproductos de pescado y otros productos marinos cobra importancia en la nutrición de organismos acuáticos debido a su valor nutricional, su fácil adquisición, volumen y bajo costo (Ricque Marie *et al.,* 2000).

Así como la harina de pescado, otras harinas marinas han sido incluidas en alimentos acuícolas como el camarón, calamar, langostilla, y el krill por considerarlas excelentes fuentes de proteína, altos niveles de ácidos grasos insaturados, vitaminas, minerales y ser buenos atractantes (Tacon y Akiyama, 1997 en Davis *et al.,* 2004). Entre estos ingredientes, la cabeza de camarón fue probada en dietas para camarón mejorando su crecimiento a medida que se aumenta el nivel de inclusión (Cruz-Suárez *et al.,* 1993; Fox *et al.*, 1994; Sudaryono *et al.*, 1995) y es considerada una buena opción para disminuir la inclusión de harina de pescado. Cruz-Suárez y Guillaume *(*1987) encontraron un efecto estimulador del crecimiento en la proteína del calamar. Fenucci *et al., (*1988) y Akiyama, (1991) reportan beneficios de la harina de calamar en el crecimiento para varias especies de camarón (*L. vannamei* y *L. stylirostris*) al incluirlo en la dieta a niveles de 5-6%. Cruz-Suárez *et al.*, (1992) utilizaron dietas complementadas con 10% de harina de calamar, obteniendo un mayor crecimiento y un mejor factor de conversión del alimento en *Penaeus monodon.* Liao y Su, (1998) utilizaron vísceras de calamar como fuente de proteína en

dietas para *Penaeus monodon*, mostrando el crecimiento más marcado al incluirlo en dietas al 5%. Siccardi *et al.*, (2006) analizó cinco tipos de harina de calamar (una harina de hígado, dos harinas de músculo y dos harinas de calamar entero) reportando que la harina obtenida a partir del músculo es altamente digerible. Se han realizado evaluaciones de la harina de langostilla como sustituto de las harinas de pescado en alimentos para camarón blanco *L. vannamei*, en las cuales se ha observado que a ciertos niveles de inclusión en el alimento, permite incrementar el consumo, acelerar el crecimiento, aumentar la actividad proteolítica en el hepatopáncreas, y mejorar la digestibilidad de la proteína y los lípidos del alimento (Goytortúa-Bores *et al.*, 2006). El krill ha sido probado en dietas como sustituto de la harina de pescado al incluirlo en diferentes porcentajes, evaluando el crecimiento en especies como la trucha arcoíris, la sustitución en las dietas fue favorable ya que se mantuvieron sin cambios en el crecimiento demostrando que la proteína de krill tiene un valor nutricional equivalente a la harina de pescado (Yoshitomi *et al.*, 2006).

2.3 Usos de productos de almeja como ingredientes en la nutrición de organismos acuáticos.

Los estudios realizados se han enfocado en la evaluación de almejas y mejillones disponibles localmente, ya sea en fresco o como harinas incluidas en dietas. En tiempos recientes, se ha hecho énfasis en la búsqueda de nuevos ingredientes, empleando subproductos como a continuación se describe:

Almejas y Mejillones han sido utilizados en fresco y en alimentos extruidos provocando efectos positivos en la reproducción (Galgani *et al.*, 1989; Cavalli *et al.*, 1997 en Cahu, 2000). Maugle *et al., (*1982) experimentó con dietas a base de almeja viva y congelada evaluando el crecimiento de *Penaeus japonicus*. Encontrando un incremento en las actividades enzimáticas (proteasas y amilasa) al utilizar almeja viva.

Carolin y José. (1995) evaluaron una harina de almeja como fuente de proteína en alimentos para el pez sabalote o pez de leche (*Chanos chanos)* encontrando un mejor crecimiento ponderal y buenos coeficientes de digestibilidad al utilizar dicha harina,

Mathew y Sherief. (1999) evaluaron el efecto de una harina de almeja como fuente de proteína, sobre el pez Ángel (*Pterophyllum scalare)* y el pez cebra (*Bruchydanio rerio)*, la dieta mostró una alta estabilidad en el agua, y mejores tasas de crecimiento y supervivencia que el alimento control. Sivanandavel *et al.,* (2007) evaluaron el efecto de varias dietas donde se incluyeron ingredientes como la harina de pescado, de almeja y de soya sobre el crecimiento, sobrevivencia y conversión alimenticia de juveniles *Penaeus indicus* provocando mejores efectos en la dieta mixta donde se utilizaron los tres ingredientes experimentales.

Dentro del uso de subproductos de almeja se reporta lo siguiente; García-Ortega. (1988) trabajó en el desarrollo tecnológico para la obtención de crema de almeja enlatada a partir de olán y gónada de almeja Catarina (*Argopecten ventricosus*). Ojeda-Ruiz. (1993) utilizó desperdicios de almeja Catarina para la elaboración de un ensilado químico para su utilización en dietas balanceadas fomentando así el uso integral del recurso. Goodrich *et al.*, (1984) evaluaron el efecto de tres dietas como fuente de proteína en la trucha arcoíris (*Salmo gairdneri)* determinando el crecimiento, conversión alimenticia, sobrevivencia y contenido de ácidos grasos; una de las dietas contenía harina de desechos de almeja reemplazando a la harina de pescado, y al incluirla al 29% se observó el mejor crecimiento y conversión alimenticia.

Sudaryono *et al.,* (1996) evaluó en *Penaeus monodon* el efecto de dietas que contenían diferentes combinaciones de proteína animal preparadas a partir de subproductos de la pesca; una de las dietas contenía un combinado de subproductos de almeja y cabeza de camarón, encontrando una digestibilidad de materia seca (DAMS) y de proteína (DAP) en un rango 75.8-78.1% y 92.0-92.8%, respectivamente. Al demostrar que las harinas preparadas con subproductos de la pesca son digeridas tan eficientemente como las harinas de pescado comercial, se concluyó que existe un potencial de utilizarlos como fuente alterna de proteína.

Ramos *et al.,* (2001) realizó un estudio para determinar el valor nutricio de ingredientes marinos de bajo valor comercial, y encontró que la dieta con harina de almeja (*Protothaca thaca)* presentó la mejor digestibilidad aparente con DAMS de 92.6% y DAP

de 97.3% respectivamente, concluyendo que los organismos tuvieron una buena digestibilidad, privilegiando aquellos de origen animal como la harina de almeja.

En estudios recientes, Herrera-Andrade. **(**2008) y Terrazas *et al.*, (2010) se evaluó la digestibilidad aparente *in vivo* e *in vitro* de la harina de subproductos de almeja Catarina (*Argopecten ventricosus*) como ingrediente utilizado en alimento para el cultivo del camarón blanco del Pacífico *L. vannamei*, y reportan coeficientes de digestibilidad DAMS de 68.3% y DAP de 87.0%, respectivamente. Debido a que el empleo de subproductos de almeja en alimentos para el camarón blanco *L. vannamei* u otras especies de camarones no ha sido muy explorado, el desarrollo del presente estudio se llevó a cabo, hasta la fecha son pocos los trabajos realizados en este campo sobre todo en la determinación de digestibilidad.

2. JUSTIFICACIÓN

Las investigaciones en el campo de la nutrición de crustáceos son relativamente recientes y escasas, comparadas con la que se tienen en peces o especies terrestres. Desde hace varios años se buscan fuentes alternas de proteína de origen animal o vegetal para reemplazar a las harinas de pescado utilizadas en los alimentos para animales, dada la alta demanda y los altos precios de estas últimas, y de ahí la importancia de buscar y evaluar nuevas fuentes proteicas como lo son los subproductos pesqueros, ya que por lo general tienen un costo muy bajo, cuentan con alta disponibilidad y permiten reducir del costo del alimento (Civera *et al.*, 1998).

Cada año son tiradas 2,770 toneladas aproximadamente de subproductos (olán, gónada y vísceras) de almeja Catarina, factor que además de representar un enorme desperdicio de proteína, ha provocado grandes problemas de contaminación en las zonas de extracción y procesamiento, por lo que se hace necesario dar un uso sustentable a estos residuos.

Una de las opciones más viables y sencillas de implementar es su aprovechamiento mediante la fabricación de harina a partir de los desperdicios de la pesquería de la almeja Catarina, y con ello evitar contaminación del ambiente, así como darle un valor agregado dicha pesquería, a través de la diversificación de productos que pueden ser obtenidos y ofertados en el mercado de ingredientes para acuacultura, por lo que en este trabajo se evalúa por primera vez la inclusión de una harina de subproductos de almeja Catarina a diferentes niveles como sustituto de la harina de pescado en alimentos para juveniles de camarón *L. vannamei.*

3. HIPÓTESIS

La inclusión de harina de subproductos de almeja Catarina como sustituto parcial y total de la proteína de la harina de pescado (sardina) en alimentos para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei* no afectará de manera significativa el crecimiento ponderal y la digestibilidad aparente *in vivo* de nutrientes del alimento.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar el valor nutricio de una harina de subproductos de almeja Catarina al utilizarla como fuente de proteína alterna a la harina de pescado en alimentos para juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei.*

4.2 Objetivos Particulares

1. Determinar el efecto de la sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de harina de almeja Catarina sobre el crecimiento y la utilización del alimento en juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

2. Determinar la digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca, proteína, lípidos y carbohidratos de alimentos con diferentes niveles de inclusión de harina de almeja Catarina en juveniles de de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en los Laboratorios de Nutrición Acuícola, Nutrición Experimental, Planta de Alimentos y Análisis Químicos Proximales del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), ubicado a 17 Km. de la ciudad de La Paz., Baja California Sur, México.

5.1 Organismos experimentales

Se utilizaron juveniles de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), los cuales se obtuvieron de la granja Acuacultores de la Paz (APSA) ubicada en las afueras de la ciudad de La Paz, B.C.S. Los organismos fueron transportados al CIBNOR, donde fueron aclimatados a las condiciones de cultivo en el laboratorio de Nutrición Experimental dentro de tanques de fibra de vidrio con capacidad de 2,500L. Los camarones fueron, alimentados con un alimento balanceado comercial con 35% de proteína, hasta que alcanzaron el tamaño requerido para los experimentos.

5.2 Ingredientes y materias primas

Las materias primas como harina de pescado (sardina entera), pasta de soya, harina de trigo integral, aceite de atún, lecitina de soya, etc. fueron obtenidas de casas comerciales (ver leyenda de Tabla 4).

5.3 Recolecta y manejo de los subproductos de almeja Catarina.

Los subproductos de almeja Catarina utilizados (sin concha, ni callo) fueron obtenidos en uno de los mataderos de Puerto San Carlos, ubicado en Bahía Magdalena, B.C.S., México. La recolección fue realizada inmediatamente después de que los matadores extrajeron el callo, por lo que la materia prima fue muy fresca. Ésta se conservó en hielo durante su transportación al CIBNOR, y posteriormente en congelación a –20 °C hasta su uso.

5.4 Fabricación de la harina de subproductos de almeja Catarina

La harina de subproductos de almeja Catarina se fabricó en el laboratorio de Nutrición Acuícola. Los subproductos de almeja Catarina se descongelaron a temperatura ambiente, se tomaron muestras de 150 gramos y se colocaron en un colador metálico el cual se sumergió en un baño María de agua dulce a 100 °C durante 5 minutos. Transcurrido ese tiempo, la almeja cocida se colocó en charolas de plástico para que escurriera y se enfriara a temperatura ambiente. Posteriormente se secó en una estufa con flujo de aire a 60 °C por 24 hrs, se molió en un pulverizador y se tamizó a 250 micras. La harina obtenida se conservó a 4 °C en bolsas de plástico hasta su uso (Fig. 2).

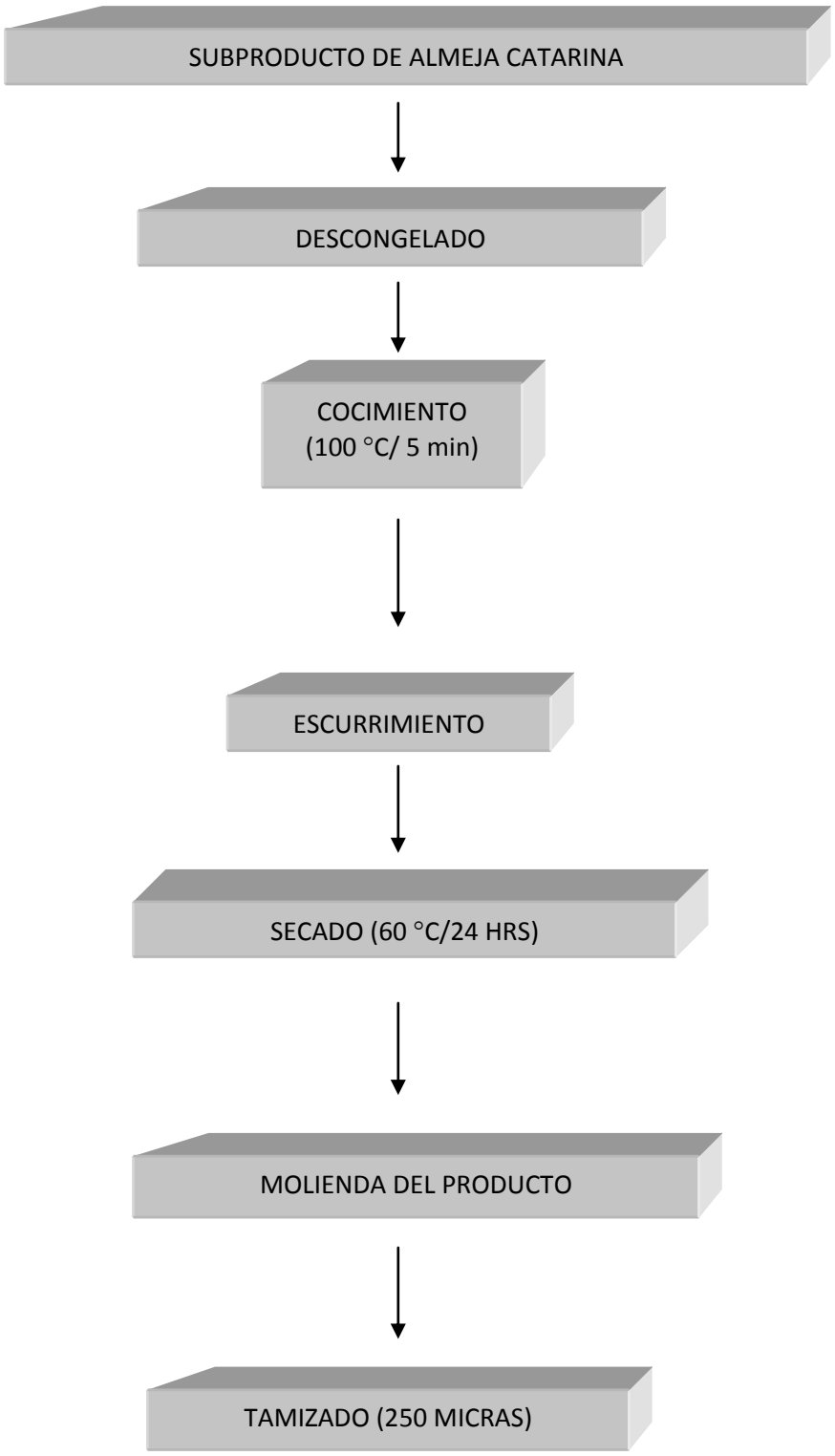


Figura 2. Diagrama de flujo para la elaboración de la harina de subproductos de almeja Catarina.

5.5 Formulación y fabricación de alimentos

La formulación de los alimentos se realizó acorde a los resultados de la composición química proximal de los ingredientes, con la ayuda del paquete MIXIT-Win^{MR} (Agricultural Sofware Consultants, Inc., San Diego, Ca, USA), teniendo como base una dieta control con 35 % de proteína cruda, que cubre los requerimientos nutricionales reportados para juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Se diseñaron 5 alimentos experimentales (Tabla 4): un control con 35% de proteína (aportada principalmente por harina de pescado) y cuatro alimentos en los que la HSAC sustituyó 25%, 50%, 75% y 100% de la proteína aportada por la harina de pescado (alimentos 25%sSus, 50%Sus, 75%Sus y 100%Sus, respectivamente).

Los alimentos fueron fabricados en la Planta de Alimentos Experimentales del CIBNOR. Los ingredientes sólidos que se utilizaron fueron molidos y tamizados a 250µm. Se mezclaron primero los macroingredientes secos (harina de sardina, subproductos de almeja Catarina, pasta de soya y harina integral de trigo) en una mezcladora Kitchen-Aid^{MR} de 5 L por espacio de 15 min. Por otro lado, se hizo la premezcla de los microingredientes (vitamina C, cloruro de colina, premezclas de vitaminas y minerales, ácido algínico y óxido crómico) y éstas se mezclaron con los macroingredientes. Paralelamente, se hizo una emulsión, con el aceite de pescado y la lecitina de soya, que fue incorporada a los ingredientes secos mezclándolos por 15 min hasta homogenizar los ingredientes. Posteriormente, y por último se agregó agua caliente, aproximadamente al 35% del peso de la mezcla sólida. La masa resultante fue extruida dos veces a través de un molino de carne TOR-REY^{MR}, equipado con un dado de 2 mm de diámetro. Los espaguetis formados se cortaron manualmente con la ayuda de una espátula, a manera de obtener un granulado de aproximadamente 0.5 a 1 cm de longitud. Después, estos fueron secados en una campana de extracción a 27ºC durante 24 hrs. Los alimentos fueron embolsados, etiquetados y almacenados en refrigeración a 4ºC hasta su utilización. Una muestra de cada alimento fue separada para determinar su composición química proximal y de energía bruta.

Para evitar variaciones debidas a la fabricación de los alimentos, se realizó un solo lote de fabricación de cada alimento, mismo que fue utilizado tanto en el bioensayo de crecimiento, como en el de digestibilidad *in vivo*.

Tabla 4. Composición de los alimentos experimentales (g/100 g de alimento) utilizados para medir el crecimiento y la digestibilidad aparente *in vivo*. en juveniles de *L.vannamei*.

Ingredientes	Control	25%Sus	50%Sus	75%Sus	100%Sus
Harina de pescado[1]	33.60	25.20	16.80	8.40	0.00
H. subproductos almeja[2]	0.00	11.20	22.41	33.61	44.81
Harina de Trigo[3]	30.37	29.97	29.90	29.88	27.84
Pasta de Soya[4]	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Aceite de pescado[5]	1.56	0.75	0.03	0.00	0.00
Lecitina de soya[6]	2.00	2.00	1.90	1.03	0.50
Almidón de maíz[7]	5.69	4.09	2.17	0.28	0.05
Ácido algínico[8]	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Premezcla de vitaminas[9]	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Fosfatodibásico de sodio[10]	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
Oxido crómico[11]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezcla de minerales[12]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Cloruro de colina 62%[13]	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamina C[14]	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Antioxidante BHT[15]	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004

[1] HP0508, Harina de sardina entera (Proteína Marinas y Agropecuarias, Guadalajara, Jal,. México.), [2] HDAC0602, Harina de Subproductos de Almeja Catarina (elaborada en el laboratorio), [3] HIT0508,Harina de trigo (Proteína Marinas y Agropecuarias, Guadalajara, Jal,. México..), [4] PSoy0507, Pasta de soya (PIASA, La Paz, B.C.S., México.), [5] AcPes 0509, Aceite de Atún (Promotora Industrial Acuasistemas, S.A. de C.V., La Paz, B.C.S.) .[6] LSoy051-s , Lecitina de Soya (Rey Sol. La Paz, B.C.S.), [7]Sigma S-4126, Sigma # cat. S-4126, St. Louis, MO, E.U.A. [8]Sigma, A-7128, St. Louis, MO, E.U.A. [9 y 12] La composición de las premezcla de vitaminas y minerales se muestra en las Tablas 4 y 5, respectivamente. [10]Sigma-Aldrich # cat.S0876 [11] Óxido crómico (Aldrich Chemical Company Inc. No.Cat. 20,216-4). [13]CloCol981, Biomedicals. Inc., Aurora, OH, [14] Stay-C 35% aa U.S.A. Roche, D.F., México. [15]Butil-hidroxi-tolueno, ICN # cat. 101162, ICN Biomedicals Inc., Aurora, OH. E.U.A.

Tabla 5. Composición de la premezcla de vitaminas.

Vitamina	Catálogo	g/kg de Premezcla
Vitamina A acetato (Retinol)	160079[1]	5
Vitamina D_3 (Colecalciferol)	160107[1]	0.001
Vitamina E (Tocoferol) dl-alfa-tocopherilacetato(250UI/g)	T-3376[2]	8
Vitamina K_3 (Menadiona)	102259[1]	2
Vitamina B1 (Tiamina)	103029[1]	0.5
Riboflavina (B_2)	102813[1]	3
Piridoxina(B_6) hidroclorada	102777[1]	1
Acido D-pantoténico	101228[1]	5
Niacina (Ac. Nicotínico)	102446[1]	5
D-Biotina	101023[1]	0.05
Inositol	102052[1]	5
Vitamina B_{12} (Cianocobalamina)	103271[1]	0.002
Acido fólico	101725[1]	0.18
Celulosa (alfa-celulosa)	C- 8002[2]	865.266

[1] ICN Biomedicals Inc.Ohio. USA. [2] Sigma Co.S

Tabla 6. Composición de la premezcla de minerales.

Minerales	Catálogo SIGMA[1]	g/100 g de premezcla
$CoCl_2$ $2H_2O$ Cloruro de cobalto	C – 2644	0.004
$CuCl_2$ $2H_2O$ Sulfato de cobre pentahidratado	C – 6917	0.25
$FeSO_4$ Sulfato ferroso	F – 7002	4
$MgSO_4$ $7H_2O$ Sulfato de magnesio heptahidratado	M – 9697	28.398
Sulfato de manganeso monohidratado	M -3634	0.65
Yoduro de potasio	P – 4286	0.067
Selenita de sodio	S – 1382	0.01
Sulfato de zinc heptahidratado	Z – 0501	13.193
Vehículo (alfa-celulosa)	C- 8002	53.428

[1]Sigma Co. St. Louis. USA

5.6 Lixiviación.

Los alimentos fueron sometidos a una prueba de hidroestabilidad, siguiendo la metodología descrita por Galicia-González (2001): 2 g de alimento se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, el cual contenía 100 ml de agua de mar a 27 °C. Después de una hora de inmersión con agitación constante a 100 rpm en un agitador horizontal Lab-lineMR (Melrose Park, Illinois, USA) el contenido del matraz fue filtrado a través de un papel filtro Whatman No. 3, previamente secado y pesado, con la ayuda de una bomba de vacío. El papel filtro con el alimento residual se sometió a un secado en una estufa con flujo de aire a 40°C por 18 horas. La fórmula utilizada para determinar la estabilidad de la muestra en el agua, calculada como porcentaje de materia seca retenida, fue la siguiente:

$$\%\ de\ Materia\ Seca\ Retenida\ = \frac{Peso\ seco\ del\ alimento\ residual}{Peso\ seco\ del\ alimento\ inicial}\ X\ \ 100$$

5.7 Sistema de cultivo

El sistema de cultivo utilizado para llevar a cabo los experimentos se encuentra en el laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR. El sistema de suministro de agua de mar (36-40 $^{o}/_{oo}$) al laboratorio consiste en una toma de agua ubicada a 300 metros de la orilla del mar, y por medio de una bomba de 15 HP se manda el agua a una cisterna externa con capacidad de 240 m^3; de ahí se bombea el agua pasando por un filtro de arena de 70 micras hacia una cisterna de 5 m^3, y finalmente el agua es filtrada con filtros de cartucho de 10 y 5 micras, y esterilizada con luz ultravioleta (Fig. 3).

Se utilizaron acuarios de fibra de vidrio (34 cm x 55 cm x 38 cm) con capacidad de 60 L. Cada uno estuvo equipado con los siguientes aditamentos: una malla mosquitero para evitar la fuga de organismos, un calentador sumergible de 200W (EBO-JAGER, Eheim GmbH & Co., KG Deizisau, Alemania) ajustable para mantener la temperatura del agua alrededor de 27 ± 0.5°C, un sistema de drenaje para el recambio de agua y limpieza de los acuarios, además de un exhaustor externo para airear el agua con mangueras alimentadas por un soplador de 5 HP, y con ello mantener niveles de oxígeno disuelto iguales o mayores a 5 mg/L.

La iluminación del sistema experimental se realizó con focos de 60 W controlados por un reloj a manera de mantener un fotoperiodo de 12 horas luz (06:00 – 18:00 hrs.) y 12 horas obscuridad.

.

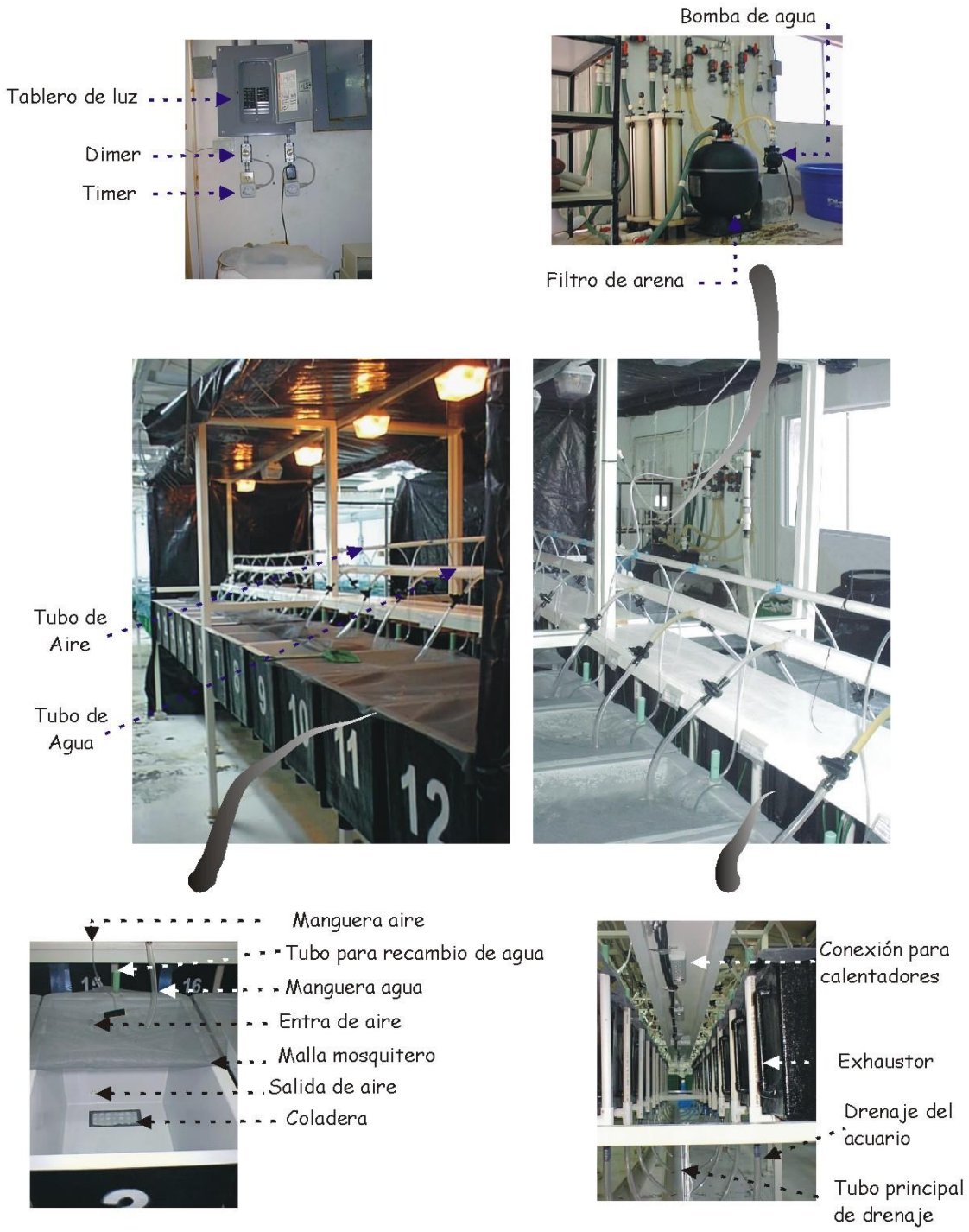


Figura 3. Sistema de cultivo utilizado para la evaluación de los alimentos en el laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR (tomado de Galicia-González, 2001).

5.7 Bioensayo de Crecimiento

El primer experimento consistió en un bioensayo de crecimiento para evaluar los 5 alimentos diseñados: un alimento control y cuatro en los que la harina de subproductos de almeja sustituyó parcial y totalmente la harina de pescado (25%Sus, 50%Sus, 75%Sus y 100%Sus) (Tabla 4).

5.7.1 Diseño experimental y condiciones de cultivo.

Después de un periodo de aclimatación, los juveniles de *L. vannamei* se pesaron individualmente, seleccionando 200 organismos con peso promedio de 0.45 ± 0.01 g, y se distribuyeron aleatoriamente en 20 acuarios a una densidad de 10 organismos por acuario. Cada uno de los 5 alimentos fue asignado aleatoriamente a 4 acuarios, por lo que se contó con 4 réplicas por cada tratamiento alimenticio.

El experimento tuvo una duración de 45 días, durante los cuales se llevó a cabo un monitoreo diario de los siguientes parámetros físico-químicos: temperatura y oxígeno disuelto, se midieron con un oxímetro YSI^{MR} Modelo 57, y la salinidad con un refractómetro VISTA^{MR}. Diariamente se realizó un recambio de agua de aproximadamente 80%, bajando el nivel de los acuarios a un 20% de su capacidad, para posteriormente realizar una limpieza consistente en sifoneos para retirar restos de alimento, heces, y exuvias. Diariamente, se llevó un registro del número de mudas, el número de muertos y la cantidad aparente de alimento residual.

La alimentación fue *ad libitum,* es decir, a saciedad aparente con dos alimentaciones (09:00 y 17:30 hrs.) al día. El primer día se les suministró el 15% de la biomasa total en cada acuario, y posteriormente se ajustó en función del consumo diario, a manera de que siempre hubiera un ligero excedente.

Se realizaron tres biometrías de los organismos, al inicio, y cada 15 días. Todos los organismos fueron pesados individualmente en una balanza OHAUS^{MR} con precisión de 0.001 g, eliminando el exceso de agua con la ayuda de papel absorbente.

5.7.1 Criterios de evaluación

Se utilizaron los siguientes índices para la evaluación biológica de los organismos alimentados:

Supervivencia (S): Porcentaje de organismos vivos durante el tiempo de la evaluación experimental

$$S = \frac{Nf}{Ni} X100$$

Donde: Nf= número final de organismos

Ni= número inicial de organismos

Tasa relativa de crecimiento (TC): Es un índice sensitivo a la calidad del alimento, denota el crecimiento ponderal promedio, expresado en porcentaje.

$$TC = \frac{Pf - Pi}{Pi} X100$$

Donde: Pf, es el peso final del organismo

Pi, es el peso inicial del organismo

Factor de Conversión Alimenticia (FCA). Es la cantidad de alimento (g) necesario para que el camarón aumente una unidad de peso (g)

$$FCA = \frac{Alimento\ \ aparentemente\ consumido\ (g)}{Incremento\ en\ peso\ corregido\ (g)}$$

Este factor se corrige en función de la mortalidad, de acuerdo a Kitabayashi *et al.* (1971).

$$IPC = Bf + 1/2(Ppf + Ppi)(Nm) - Bi$$

En donde:

IPC = Incremento en peso corregido

Bf = Biomasa final

Bi = Biomasa inicial

Ppf = Peso promedio final

Ppi = Peso promedio inicial

Nm = Número de muertos

Eficiencia proteica (EP). Son los gramos de peso ganados, por gramo de proteína consumida.

$$EP = \frac{\text{Incremento en peso corregido (g)}}{\text{Proteína consumida (g)}}$$

5.7.2 Análisis estadísticos

Se verificó la normalidad y la homogeneidad de varianzas utilizando las pruebas Lilliefors y de Bartlett, respectivamente (Sokal y Rolhf, 1995). Se llevó a cabo un Análisis de Varianza (ANOVA) a fin de determinar si existían diferencias entre los tratamientos alimenticios, considerando diferencias significativas cuando *P* tuvo valores menores o iguales a 0.05 *(P< 0.05).* Los análisis se realizaron con el software STATISTICA VERSION 6.0 (StatSoft®, Tulsa. OA, USA, 1998).

5.8 Ensayo de digestibilidad aparente *in vivo*

Este experimento consistió en determinar la digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca, proteína, lípidos y carbohidratos de los 5 alimentos utilizados en el bioensayo de crecimiento (Tabla 4), que contenían 1.0% de óxido crómico como marcador inerte.

5.8.1 Diseño experimental y condiciones de cultivo.

Los 5 alimentos experimentales fueron asignados aleatoriamente en 20 acuarios, a manera de contar con 4 réplicas por tratamiento. Los camarones utilizados fueron los mismos ejemplares del experimento de crecimiento por lo que no fue necesario aclimatarlos al alimento, y fueron distribuidos a una densidad de 5 organismos por acuario. El bioensayo tuvo una duración aproximada de 45 días o hasta reunir 15 gramos de heces en cada acuario.

Se controló la temperatura y se mantuvo un fotoperiodo (12 h/ luz 12h/obs.).Se llevó a cabo un monitoreo diario de los siguientes parámetros físico-químicos; temperatura y oxígeno disuelto se midieron con un oxímetro YSI^{MR} Modelo 57, y la salinidad con un refractómetro VISTA^{MR}.

5.8.2 Colecta y procesamiento de heces

Una vez limpios los acuarios, se suministró diariamente el alimento correspondiente a razón del 10% de la biomasa de los camarones, a manera de que siempre hubiera alimento ligeramente en exceso. Al paso de dos horas, se llevó a cabo una primera colecta de heces, realizando un sifoneo con la ayuda de una manguera de plástico (0.5cm de diámetro) unida a un tubo de vidrio en la punta. El agua junto con el material fecal fueron filtrados por un tamiz con luz de malla de 0.5mm quedando dentro de este todas la heces, las cuales fueron

enjuagadas ligeramente con agua destilada para eliminar el exceso de sales, y posteriormente se congelaron a -4˚C. Una vez terminada la primera colecta del día, se proporcionó alimento y al cabo de una hora, se realizó una segunda colecta de heces. Las muestras de heces fueron congeladas a -80˚C, liofilizadas y homogenizadas, a fin de contar con una sola muestra (pool de muestras diarias) por acuario (réplica biológica). Posteriormente, éstas fueron analizadas por triplicado para determinar sus contenidos de proteína, lípidos, carbohidratos y óxido crómico como se describe a continuación.

5.8.3 Análisis químicos proximales de ingredientes

Los ingredientes que se utilizaron en la elaboración de los alimentos experimentales, así como los alimentos producidos, se analizaron en el laboratorio de Análisis Químicos Proximales del CIBNOR, para conocer su contenido en: proteína (micro Kjeldahl), extracto etéreo (Soxhlet), humedad (estufa a 70ºC durante 24 h), fibra cruda (hidrólisis ácido-básica), energía (calorímetro adiabático PARR), y cenizas (mufla a 550ºC durante 24 h), según los métodos de la A.O.A.C. (1995). El extracto libre de nitrógeno (ELN) fue calculado por diferencia a 100%:

ELN = 100% – (% proteína + % extracto etéreo + % ceniza + % fibra cruda).

5.8.4 Análisis químicos.

Se realizaron análisis para determinar el contenido de nutrientes (composición química proximal) sobre muestras de subproductos de almeja Catarina fresca, harina de subproductos de almeja Catarina, ingredientes, alimentos experimentales y heces. Utilizando los siguientes micro métodos: Humedad (AOAC, 1995), Cenizas (AOAC, 1995), Proteína (AOAC, 1995), Lípidos totales (Bligh & Dyer, 1959), Carbohidratos (Dreywood, 1946), Contenido en Oxido crómico (Olvera-Novoa, 1994).

La humedad se determinó por diferencia de peso; el contenido de cenizas se determinó por calcinación en una mufla a 550°C.

Para la cuantificación de proteína se utilizaron un digestor y un destilador automáticos TECATOR^{MR} siguiendo el método microkjeldhal, que a continuación se describe: Se tomaron muestras de 0.1 g de peso, así como una muestra estándar de 0.1 g de EDTA, que fueron colocadas en tubos de digestión Kjeldahl. A cada tubo se le adicionó una tableta catalizadora de 1.6 g (Special Kjeltabs Cu 3.5), y se agregaron 3 ml de ácido sulfúrico concentrado a cada uno de los tubos. Posteriormente, los tubos se colocaron en el digestor TECATOR® (Foss Kjeltec 2040); una vez que este alcanzó la temperatura de 400°C aproximadamente, se colocó la tapa de succión sobre la boca de los tubos (se ajustó la succión), hasta que se terminó la digestión mostrando un cambio de color a verde cristalino.

Los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente, para después colocarlos en el destilador TECATOR® (Foss Kjeltec 2300). Para la medición, primero se colocó una muestra blanco, seguida de la muestra del estándar, y posteriormente las muestras experimentales. El cálculo de proteína cruda se realizó a partir del contenido de nitrógeno en la muestra, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V^1 - V^0) \times N \times 0.014}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Donde:
V_1= mililitros de HCl gastados en la titulación de la muestra
V_0= mililitros de HCl gastados en la titulación del blanco
N= normalidad de HCl
Cantidad de muestra = peso de la muestra (g)
0.014 miliequivalentes de HCl

Y el porcentaje de proteína cruda se calculó de la siguiente manera:

% de Proteína cruda = (%N) x factor 6.25

Para determinar la cantidad de lípidos totales se utilizó la metodología descrita por Bligh & Dyer (1959) modificada. Se tomaron 100 mg de muestra finamente molida. Se colocaron en tubos de ensaye y se agregaron 6.3 ml de una mezcla metanol:cloroformo:agua (2:1:0.8; v:v:v) como primera solución extractora. Las muestras se centrifugaron a 2,500 r.p.m. por 10 min. a una temperatura de 27°C (centrífuga (Beckman Instruments USA), y se separó la mezcla cloroformo: lípidos. El material residual, metanol:agua:lípidos, se sometió a un doble lavado con cloroformo, utilizando 2 y 3 ml, respectivamente.

La mezcla cloroformo:lípidos se sometió se secó utilizando un microevaporador rotatorio (VV-micro Heidolph, Alemania) hasta evaporar al máximo el cloroformo. Los lípidos residuales se recuperaron utilizando 1 ml de cloroformo para ser vertidos en viales. El cloroformo se evaporó utilizando una corriente de nitrógeno. El porcentaje de lípidos totales se obtuvo por diferencia entre el peso de la muestra inicial con lípidos y el peso de los lípidos recuperados.

$$\text{Lípidos totales (LT)} = \frac{\text{Peso de lípidos recuperados (g)}}{\text{Peso de muestra antes de extracción (g)}} X\ 100$$

Para la determinación de carbohidratos totales se utilizó la metodología descrita por Dreywood (1946). Se preparó una solución con 0.050g de reactivo de Antrona y se diluyó en 25 ml de ácido sulfúrico concentrado a la que llamaremos “solución de Antrona”. Se pesaron 100 mg de muestra los cuales se colocaron en tubos de ensaye con tapón rosca, se les agregaron 3 ml de HCl 2N, se agitaron en un Vortex y se calentaron a 100ºC durante 60min. hidrolizando cada una de las muestras. Se enfriaron en un baño de hielo, y posteriormente se prepararon una serie de tubos con tapón rosca a los que se agregaron 6µl de muestra para diluirlas con 994 µl de agua destilada. Se tomó 1ml de muestra diluida y se colocó en tubos de ensaye con rosca; se añadieron 2ml de la solución de Antrona, se taparon y agitaron en un Vortex, para después sumergirlos en un baño de hielo. Se retiraron y se calentaron los tubos a 80ºC durante 15 min a baño María, nuevamente se enfriaron en hielo y se leyó la absorbancia a 630nm en un espectrofotómetro, utilizando agua destilada como blanco.

A su vez se preparó una solución para contar con una curva estándar, para lo cual se pesaron 15 mg de glucosa, se diluyeron en 80 ml de agua destilada, y una vez disuelta se aforó a 100 ml en un matraz aforado, siendo la concentración final de glucosa en la solución de 150µg/ml. Se preparó una serie de soluciones con concentración conocida (15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 y 150 µg/mL).

Para determinar el contenido de óxido crómico en alimentos experimentales y heces, se utilizó el método de Olvera-Novoa (1994), que a continuación se describe: 50mg de muestra finamente molida se colocaron en un tubo TECATOR^{MR} aforado a 100ml y se le adicionaron 5ml de HNO3. Los tubos se colocaron en un digestor AIM 500 (Scientific Pty Ltd) a una temperatura de 120°C por 90 min, el término de la reacción fue indicada por un color verde claro; se dejó enfriar por un lapso de 30 minutos. Una vez fría la solución, se agregaron 3ml de ácido perclórico y se sometió a un proceso de digestión hasta que la solución cambió a un tono amarillo. La confirmación del final de la reacción se observó por la aparición de un anillo rojo que se formó en la superficie de la solución, una vez fría. La solución se pasó a un matraz volumétrico de 25ml y se aforó con agua destilada, y de ahí se tomó una muestra para leer su absorbancia en un espectrofotómetro a 350nm.

Las fórmulas utilizadas para el cálculo del valor de óxido crómico fueron las siguientes:

$$X = \left(\frac{Y - 0.0032}{0.2089} \right)_{/\ 4}$$

X = cantidad de óxido de crómico presente en la muestra

Y = absorbancia.

0.0032 y 0.2089 son constantes

Donde:

% de Oxido crómico = 100 * ($^{X}/_{A}$) según Furukawa & Tsukahara (1966).

A = peso de la muestra

5.8.5 Criterios de evaluación

El marcador externo (óxido crómico, Cr_2O_3) permite llevar a cabo una colecta parcial de la materia fecal producida por los organismos alimentados con los tratamientos experimentales, y por medio de una balance de materia, tomando como base al óxido crómico, se estimó la digestibilidad aparente de materia seca (DAMS), proteína (DAP), lípidos (DAL) y carbohidratos (DAC) con la ayuda de las siguientes fórmulas (Cho y Slinger, 1979).

Digestibilidad aparente de materia seca y de nutrientes:

$$\%\,\text{DAMS} = 100 - 100 * \frac{\%\,Cr_2O_3 \text{ en dieta}}{\%\,Cr_2O_3 \text{ en heces}}$$

$$\%\,\text{Digestibilidad Aparente} = 100 - \left(\frac{\%\,Cr_2O_3 \text{ en dieta}}{\%\,Cr_2O_3 \text{ en heces}} x \frac{\%\,\text{nutriente en heces}}{\%\,\text{nutriente en dieta}} \text{x}\,100 \right)$$

5.8.6 Análisis estadísticos

Se verificó la normalidad y la homogeneidad de varianzas utilizando las pruebas Lilliefors y de Bartlett, respectivamente (Sokal y Rolhf, 1995). Se llevó a cabo un Análisis de Varianza (ANOVA) a fin de determinar si existían diferencias entre los tratamientos alimenticios, considerando diferencias significativas cuando *P* tuvo valores menores o iguales a 0.05 *(P< 0.05)*. Los análisis se realizaron con el software STATISTICA VERSION 6.0 (StatSoft®, Tulsa. OA, USA, 1998).

6. RESULTADOS

6.1 Composición química proximal de los ingredientes

La composición química de los principales ingredientes utilizados en la fabricación de los alimentos se presenta en la Tabla 7. Los valores de humedad de la harina de pescado (3.54%) y la harina de subproductos de almeja Catarina (HSAC) (4.53%), fueron muy bajos; ambas harinas tuvieron altos contenidos de proteína 66.2% y 50.2%. La HSAC presentó contenidos altos de lípidos (14.5%) y de cenizas (22.2%) con respecto a la harina de pescado (9.2% y 16.6%, respectivamente). La pasta de soya tuvo el contenido más alto en fibra cruda (2.0%), mientras que el valor más alto de energía se encontró en la harina de pescado (4,613Cal/g).

Tabla 7. Composición química proximal* (g/100 g de materia seca, excepto humedad) y de energía de los macroingredientes utilizados en la fabricación de los alimentos experimentales.

Ingrediente	Código	Humedad	Proteína cruda	Extracto etéreo	Fibra cruda	Cenizas	E.L.N[2]	Energía Cal/g
Harina de Pescado[1]	HP0508	3.54 ± 0.0	66.21 ± 0.20	9.23 ± 0.33	0.06 ±0.03	16.58 ± 0.09	7.92	4,613 ± 1
H. de Subproductos de Almeja[2]	HDAC0602	4.53 ± 0.0	50.16 ± 0.15	14.48 ± 0.24	0.08 ±0.01	22.24 ± 0.03	13.04	4,416 ± 7
Harina de trigo[3]	HIT0508	7.59 ± 0.16	12.68 ± 0.08	0.74 ± 0.07	0.22 ±0.0.3	0.49 ± 0.11	85.86	3,766 ± 5
Pasta de soya[4]	PS0507	5.96 ± 0.03	52.86 ± 0.03	2.59 ± 0.08	2.01 ± 0.15	6.95 ± 0.04	35.55	4,282 ± 5

*Valores promedio ± desviación estándar de 3 réplicas por muestra. Extracto Libre de Nitrógeno = 100 – (% Proteína + % Extracto etéreo + % Fibra + % Ceniza). [1] Harina de Sardina (Proteína Marinas y Agropecuarias, Guadalajara, Jal, México.), [2] Harina de Subproductos de Almeja Catarina (elaborada en el laboratorio), [3] Harina de trigo (Proteína Marinas y Agropecuarias, Guadalajara, Jal. México.), [4] Pasta de soya (PIASA, La Paz, B.C.S., México.),

6.2 Composición proximal de los alimentos experimentales.

La composición química proximal, de energía bruta y la estabilidad en el agua de los alimentos utilizados en los experimentos de crecimiento y digestibilidad se presenta en la Tabla 8. El contenido proteico muestra una mínima variación de 36.98% (control) a 37.79% (100%Sus). El contenido de lípidos presentó valores más altos en el alimento 25%Sus mientras que el menor valor se obtuvo en el alimento 100%Sus. El contenido de ceniza tiende a aumentar conforme se añadió harina de subproductos de almeja al alimento, variando de 10.3% en el alimento control a 14.0% en el 100%Sus. La energía bruta de los alimentos varió de 3,986 cal/g en el alimento 75%Sus a 4,231 en el alimento control. Los valores de estabilidad de los alimentos en agua, expresados como porcentaje de materia seca retenida, fueron superiores a 93% en todos los alimentos.

Tabla 8. Composición química proximal[*] (g/100 g de materia seca, excepto humedad), de energía bruta (cal/g) y estabilidad en el agua (%) de los alimentos utilizados para evaluar la calidad nutricia de la harina de subproductos de almeja para juveniles de *L. vannamei.*

	Control	25%Sus	50%Sus	75%Sus	100%Sus
Humedad	4.27	5.75	5.48	5.41	4.92
	± 0.10	± 0.23	± 0.21	± 0.30	± 0.05
Proteína	36.98	37.05	37.54	37.52	37.79
	± 0.05	± 0.23	± 0.06	± 0.21	± 0.17
Extracto etéreo	5.50	6.27	3.49	4.27	3.08
	± 0.34	± 0.17	± 0.26	± 0.15	± 0.21
Fibra cruda	0.33	0.45	0.49	0.45	0.45
	± 0.06	± 0.03	± 0.03	± 0.01	± 0.07
Cenizas	10.31	11.33	12.33	13.47	14.02
	± 0.04	± 0.10	± 0.19	± 0.11	± 0.12
E.L.N.[1]	46.88	44.89	46.16	44.29	44.66
Energía bruta	4,231	4,141	4,132	3,986	3,987
	± 10	± 7	± 13	± 10	± 9
Hidroestabilidad	93.58[a]	94.23[a]	94.30[a]	94.26[a]	93.53[a]
	±0.36	±0.59	±0.21	±0.45	±0.59

[*] Valores promedio ± desviación estándar de 3 réplicas por muestra. [1] Extracto Libre de Nitrógeno = 100 – (% Proteína + % Extracto etéreo + % Fibra + % Ceniza).

6.3 Bioensayo de crecimiento

6.3.1 Parámetros fisicoquímicos del agua.

Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del agua durante el experimento fueron los siguientes: temperatura 27.1 ± 0.3 ºC, salinidad 40 ± 0.1 ‰, y oxígeno disuelto 6.01 ± 0.4 mg/L. Los parámetros fisicoquímicos del agua fueron similares entre los tratamientos y no se detectó ningún efecto negativo sobre los organismos.

6.3.2 Resultados Zootécnicos.

Los resultados zootécnicos obtenidos al cabo de 45 días del experimento se muestran en la Tabla 9. La inclusión de harina de subproductos de almeja, como sustituto de la harina de pescado, provocó una ligera disminución del peso promedio final y la tasa de crecimiento (Figs. 4 y 5), sin embargo, no se detectaron significativas entre los tratamientos ($p>0.05$). La supervivencia varió de 87.5% a 100%, sin observarse alguna relación con el tipo de alimento suministrado (Fig. 6).

El alimento consumido fue afectado por la inclusión de HSAC; los valores más altos fueron encontrados con los alimentos control y 25%Sus (0.17 y 0.15 mg/org/día) siendo significativamente mayores ($p<0.05$) al encontrado con el alimento 100%Sus (0.11 mg/org/día) mientras que los demás tratamientos no difirieron entre sí (Fig. 7).

Una tendencia similar se observó para la proteína ingerida, donde el valor más alto (0.06 mg/org/día) se registró para el alimento control, que fue significativamente mayor ($P< 0.05$), al obtenido con el alimento 100%Sus (0.04 mg/org/día), mientras que los demás tratamientos no difirieron entre sí (Fig. 8).

El alimento 100%Sus registró el factor de conversión alimenticia más bajo (1.59), mientras que el alimento control tuvo el más alto (2.0), y no se detectaron diferencias entre los demás tratamientos (Fig.9). La eficiencia proteica va mejorando a medida que la inclusión de HSAC va en aumento en el alimento, encontrando el mayor valor en el alimento100%Sus con respecto al alimento control, siendo esta diferencia significativa ($P< 0.05$), (Fig. 10).

Tabla 9. Resultados zootécnicos de juveniles de camarón banco *L. vannamei* alimentados durante 45 días con alimentos donde se sustituyó, a diferentes niveles, la proteína de harina de pescado con harina de subproductos de almeja Catarina.

Alimento	Peso promedio final (g)	Tasa de crecimiento (%)	Sobre-vivencia	Alimento consumido (mg/org/día)	Proteína ingerida (mg/org/día)	Factor de conversión alimenticia	Eficiencia proteica
Control	3.83a ±0.45	759.5a ±92.3	97.5a ±5.0	0.17a ±0.02	0.06a ±0.01	2.00a ±0.07	1.35b ±0.05
25%Sus	3.65a ±0.43	713.2a ±86.5	87.5a ±15.0	0.15a ±0.02	0.06ab ±0.01	1.88ab ±0.07	1.43ab ±0.05
50%Sus	3.51a ±0.31	678.0a ±75.4	92.5a ±5.0	0.13ab ±0.02	0.05ab ±0.01	1.80ab ±0.19	1.48ab ±0.16
75%Sus	3.34a ±0.33	652.7a ±73.4	100.0a ±0.0	0.14ab ±0.03	0.05ab ±0.01	1.86ab ±0.18	1.44ab ±0.15
100%Sus	3.27a ±0.11	637.5a ±20.8	90.0a ±8.2	0.11b ±0.01	0.04b ±0.00	1.59b ±0.17	1.68a ±0.16

Control = alimento con harina de pescado. %Sus = porcentaje de sustitución de la proteína de la harina de pescado con harina de subproductos de almeja Catarina. Valores promedio de 4 réplicas ± desviación estándar. Letras diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($p<0.05$).

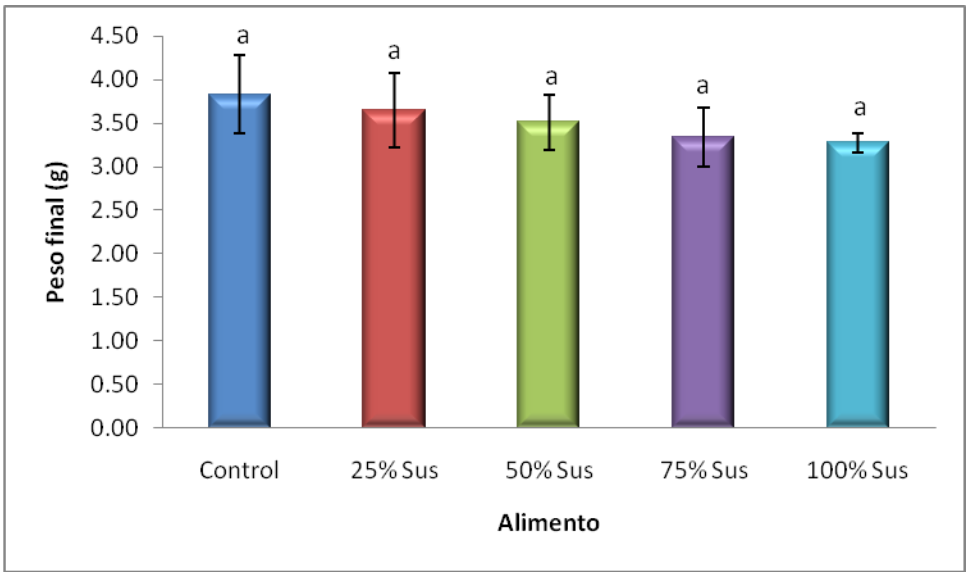


Figura 4. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre el peso final (g) de juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

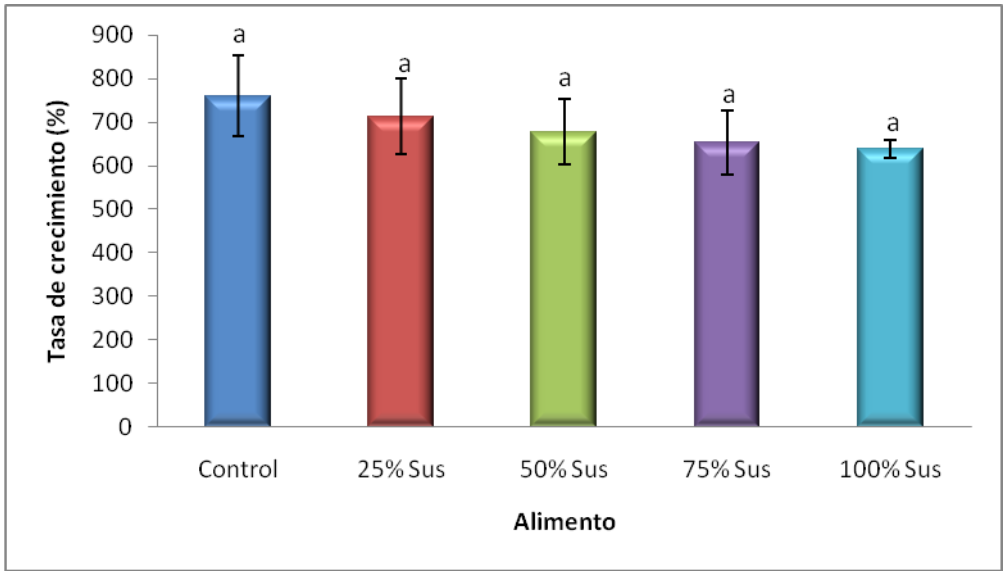


Figura 5. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la tasa de crecimiento (%) en juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

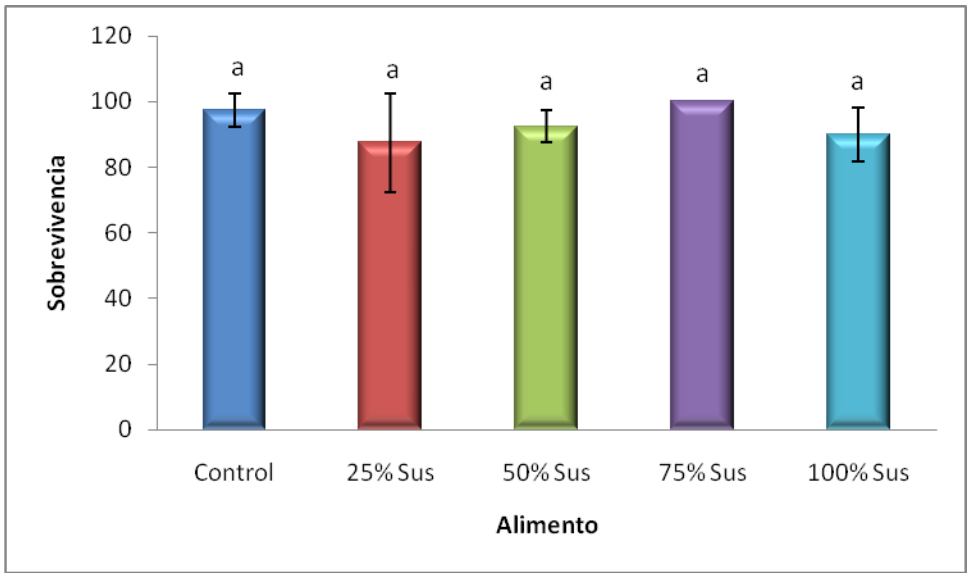


Figura 6. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la supervivencia de juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

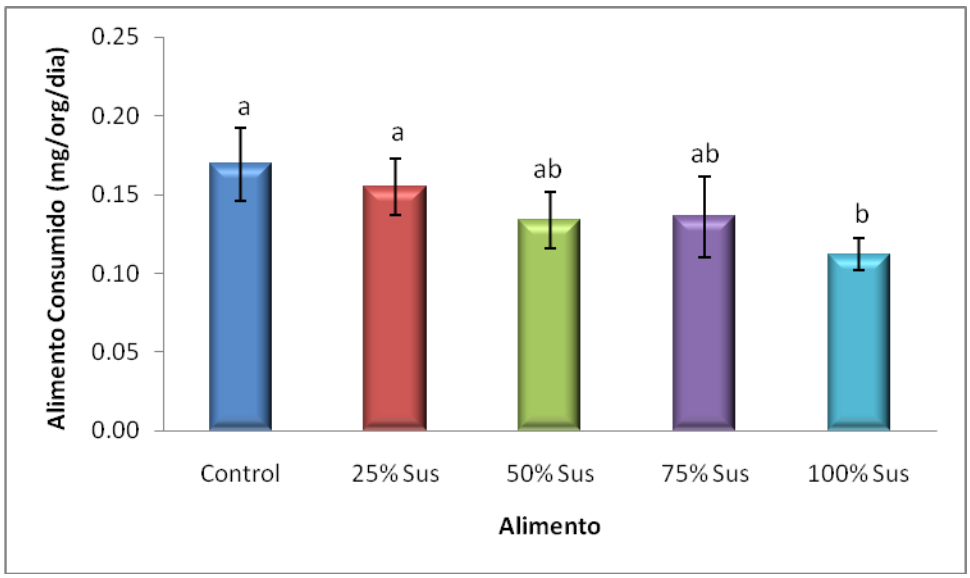


Figura 7. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre el alimento consumido (mg/org/día) por juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

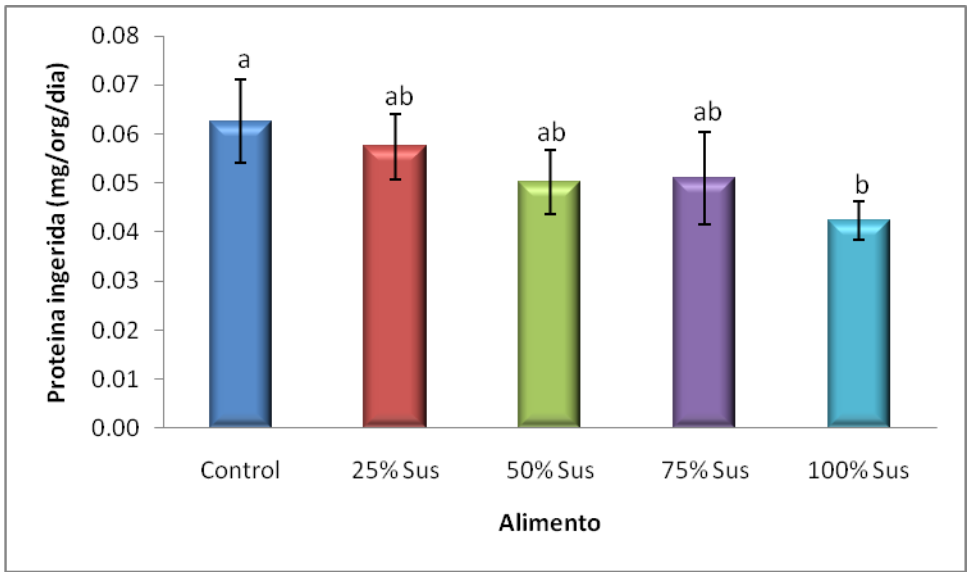


Figura 8. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la proteína ingerida (mg/org/día) por juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

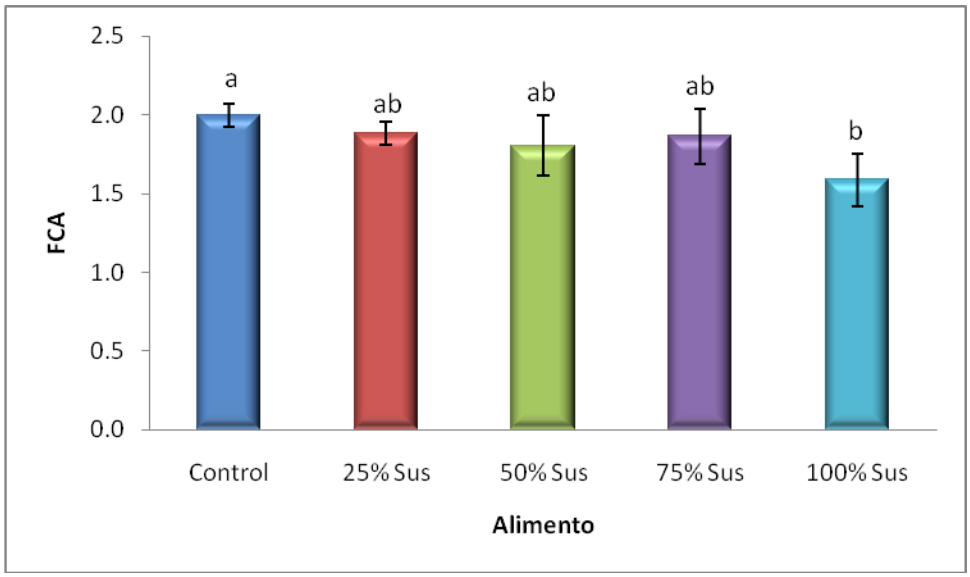


Figura 9. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre el factor de conversión alimenticia (FCA) en juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

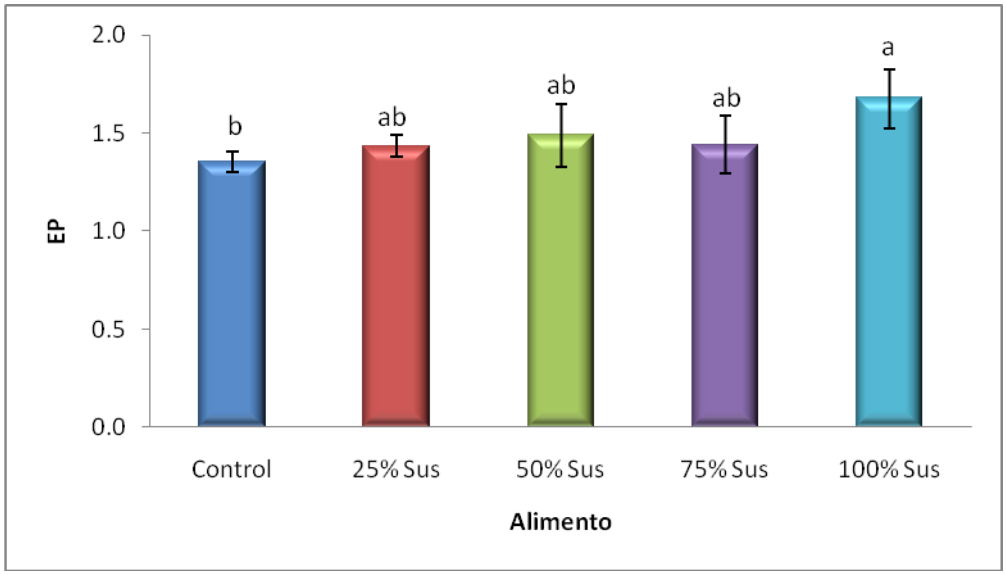


Figura 10. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre la eficiencia proteica (EP) en juveniles de *L. vannamei*, al cabo de 45 días de experimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

6.4 Ensayo de digestibilidad aparente *in vivo*

6.4.1 Parámetros fisicoquímicos del agua.

Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del agua durante el experimento fueron los siguientes: temperatura 27.0 ± 0.2 ºC, salinidad 40 ± 0.01 ‰, y oxígeno disuelto 5.90 ± 0.2 mg/L. Los parámetros fisicoquímicos del agua fueron similares entre los tratamientos y no se detectó ningún efecto negativo sobre los organismos.

6.4.2 Coeficientes de utilización digestiva aparente.

Los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de los alimentos se muestran en la Tabla 10. La digestibilidad aparente de materia seca (DAMS) incrementó significativamente ($p<0.05$) a medida que se incluyó harina de subproductos de almeja en el alimento, hasta llegar a un valor máximo de 84.7% en el alimento donde se sustituyó el 50% de la proteína de la harina de pescado (alimento 50%Sus). Niveles de sustitución superiores (75% y 100%) disminuyeron la digestibilidad, pero aún así se encontraron valores significativamente mayores al encontrado en el alimento Control, que fue de 70.0% de DAMS (Fig.11).

Tabla 10. Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (promedio ± desviación estándar) de materia seca, proteína, lípidos, y carbohidratos de los alimentos experimentales.

DIETA	Materia Seca (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)
Control	70.0c ±0.5	83.6c ±0.8	75.0b ±1.6	95.8c ±0.6
25%Sus	78.7b ±0.7	88.6b ±0.3	83.7a ±1.4	96.3bc ±0.5
50%Sus	84.7a ±0.1	92.9a ±0.4	85.1a ±1.1	98.0a ±0.4
75%Sus	75.8b ±0.4	90.5ab ±0.2	74.6b ±1.20	97.4ab ±0.5
100%Sus	77.0b ±0.9	92.2a ±1.3	76.5b ±1.3	97.7ab ±1.0

Control = alimento con harina de pescado. %Sus = porcentaje de sustitución de la proteína de la harina de pescado con harina de subproductos de almeja Catarina. Letras diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($p<0.05$).

La digestibilidad aparente de proteína (DAP) siguió un comportamiento similar al de la DAMS, incrementándose significativamente a medida que se incluyó harina de subproductos de almeja en el alimento, hasta llegar a un valor máximo de 92.9% de DAP en el alimento 50%Sus. Niveles de sustitución superiores (75% y 100%) también resultaron en valores de digestibilidad elevados y, aunque iguales entre sí ($p>0.05$), fueron superiores al encontrado con el alimento control (83.6%), (Fig.12).

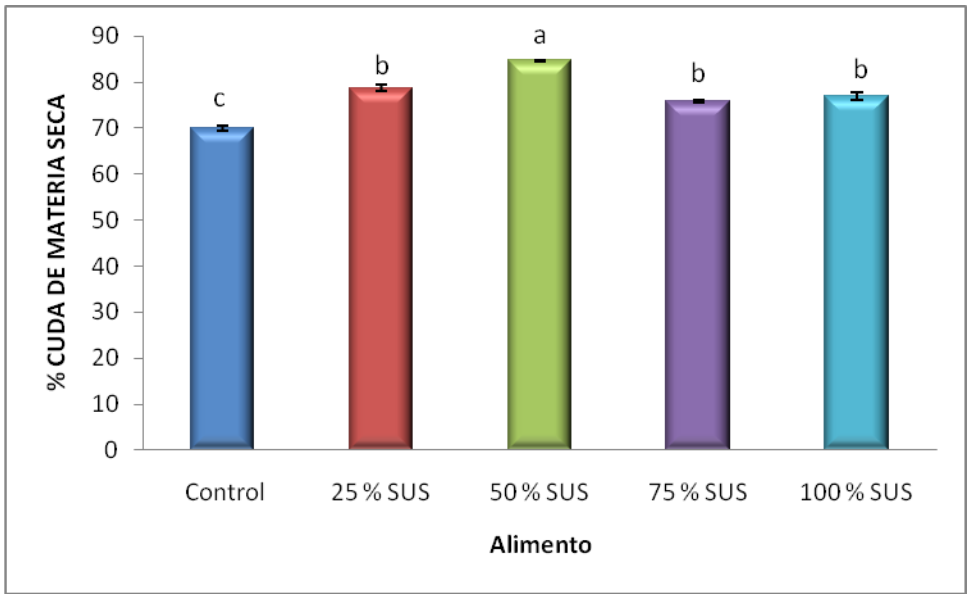


Figura 11. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Materia Seca en juveniles de *L. vannamei.* Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

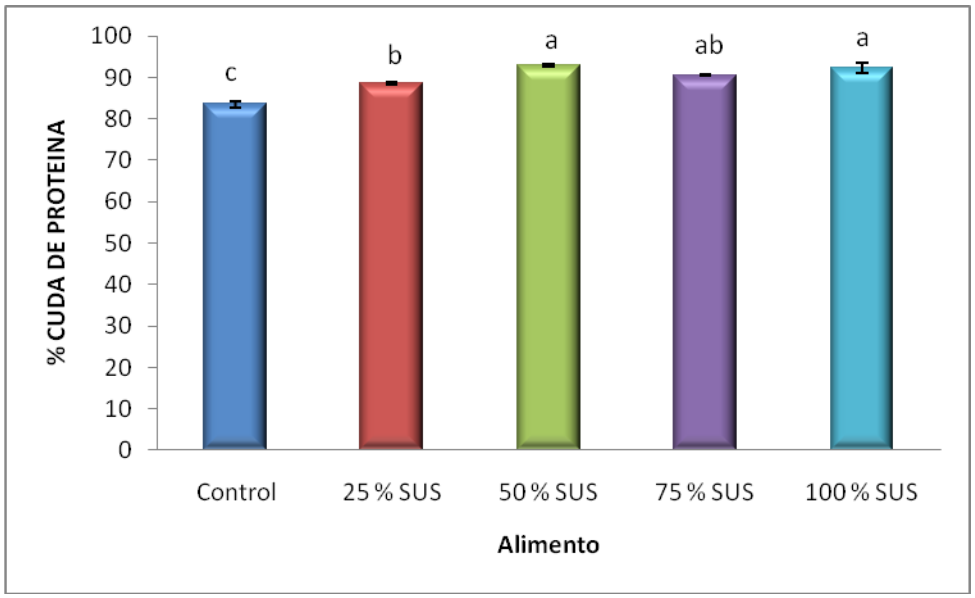


Figura 12. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Proteína en juveniles de *L. vannamei.* Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

La digestibilidad aparente de lípidos (DAL) aumentó significativamente al incluir la harina de subproductos de almeja en los alimentos, alcanzando valores de 83.7% y 85.1 % para los alimentos 25%Sus y 50%Sus, siendo estos similares entre sí, pero mayores ($P< 0.05$) a los demás tratamientos experimentales incluido el control, que tuvo una DAL de 75.0%. (Fig. 13).

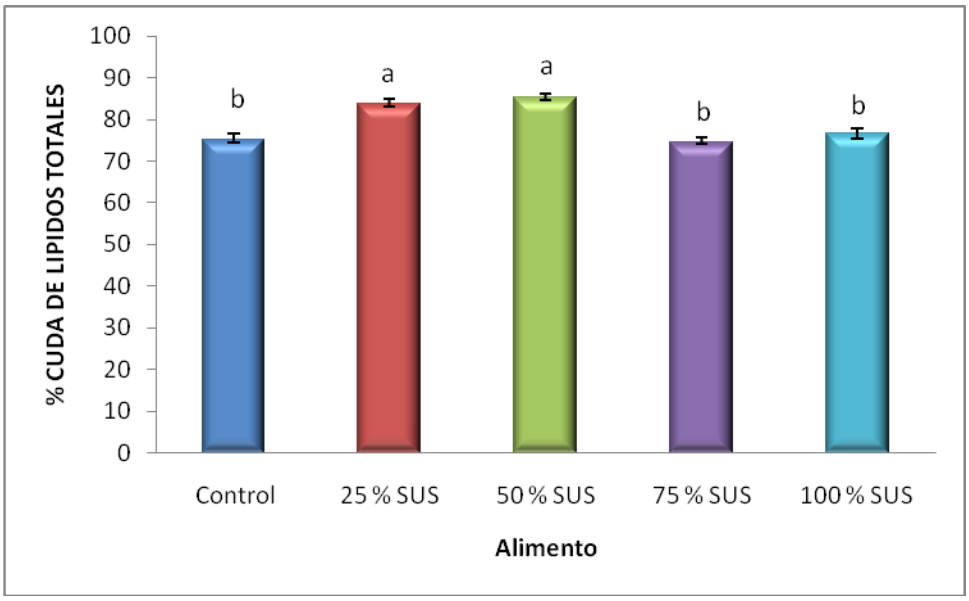


Figura 13. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Lípidos totales en juveniles de *L. vannamei.* Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

La digestibilidad aparente de carbohidratos (DAC) incrementó a medida que se incluyó harina de subproductos de almeja en el alimento, hasta llegar a un valor máximo de 98.0% en el alimento 50%Sus. Niveles de sustitución superiores (75% y 100%) también resultaron en valores de digestibilidad elevados y, aunque iguales entre sí ($p>0.05$), fueron superiores al encontrado con el alimento control (95.8%), (Fig.14).

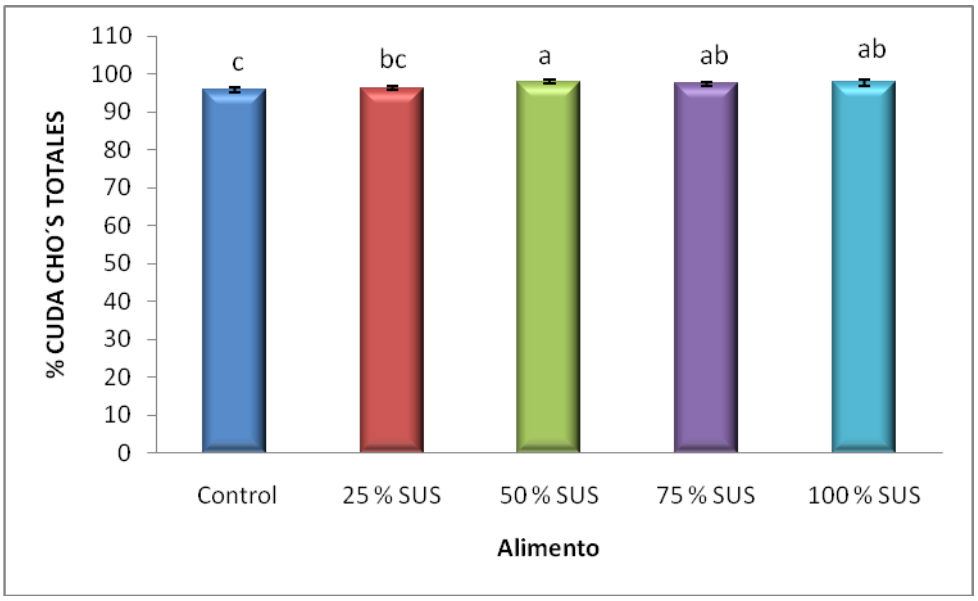


Figura 14. Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de subproductos de almeja en el alimento, sobre los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de Carbohidratos totales en juveniles de *L. vannamei*. Valores promedio ± desviación estándar. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

7. DISCUSIÓN

7.1 Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de la harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, sobre el crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

La calidad del agua así como los parámetros fisicoquímicos (salinidad, temperatura y oxígeno) se mantuvieron dentro de los valores considerados adecuados para el cultivo de camarones peneidos a lo largo del experimento. Asimismo, la prueba de estabilidad en el agua aplicada a los alimentos, no mostró diferencias estadísticas significativas entre ellos, por lo que se puede afirmar que los resultados de sobrevivencia, crecimiento, alimento consumido, proteína ingerida, factor de conversión alimenticia y eficiencia proteica obtenidos durante los 45 días del experimento, son atribuibles a los alimentos experimentales, en particular, a los diferentes niveles de sustitución de la harina de pescado con la harina de subproductos de almeja Catarina (HSAC).

El análisis de la composición química proximal de la HSAC mostró valores de proteína, extracto etéreo y cenizas de 50.2%, 14.4% y 22.2% respectivamente, reflejando que es una buena fuente de proteína y lípidos, aunque tiene un elevado contenido de cenizas.

La sustitución de la proteína cruda de la harina de pescado (sardina entera) con la de harina de HSAC implicó un desbalance de materia, ya que el contenido de proteína cruda de la harina de pescado era mayor, por lo que fue necesario agregar mayores cantidades de HSAC para mantener niveles de proteína similares entre los alimentos. Sin embargo, aparentemente la sustitución de la proteína de pescado por la de almeja no tuvo efectos negativos significativos en el crecimiento de los organismos a lo largo del experimento. Debido que en México generalmente las harinas de pescado se fabrican a partir de subproductos de pescado, la calidad de la proteína y composición nutricia varía dependiendo de su frescura y del tipo de materia prima (Civera *et al.*, 1998, Cruz-Suárez *et al.*, 1998). La harina de pescado utilizada aquí tuvo contenidos de proteína, extracto etéreo y cenizas de 66.2%, 9.2% y 16.56%, respectivamente, y puede considerarse, *a priori*, como

de buena calidad, ya que fue fabricada a partir de sardina entera, que tiene un alto valor de proteína cruda y relativamente bajo contenido de cenizas. No obstante, para evaluar la calidad de las harinas, se debe considerar también el contenido de aminoácidos de la proteína y su disponibilidad digestiva para el organismo a alimentar. En ese sentido, Terrazas-Fierro (2010) reportó recientemente el perfil de aminoácidos esenciales de las harinas de pescado y subproductos de almeja Catarina empleadas aquí (Tabla 11), donde se aprecia que la harina de sardina entera contiene mayor cantidad de aminoácidos esenciales que la HSAC, con excepción de la cistina y la arginina, que tienen valores muy similares. Este mismo autor, reporta que la digestibilidad aparente de la proteína (Tabla 12) es similar entre la harina de sardina entera y la HSAC, aunque sí se detectaron algunas diferencias de digestibilidad de los aminoácidos esenciales entre ambas harinas, donde la treonina, la leucina y la isoleucina de la harina de sardina fueron mejor digeridas, mientras que la digestibilidad de fenilalanina fue mayor en la HSAC.

Tabla 11. Perfil de aminoácidos esenciales (g/100g de materia seca) de las harinas de pescado y subproductos de almeja Catarina (tomado y adaptado de Terrazas-Fierro, 2010).

Ingrediente	Met	Cis	His	Tre	Arg	Val	Fen	Ile	Leu	Lis
Harina pescado (sardina entera)	1.33	0.50	1.79	2.23	3.82	2.96	2.29	2.49	4.20	4.12
H. subproductos almeja Catarina (HSAC)	1.04	0.54	0.42	0.99	3.71	1.56	1.19	1.68	2.49	2.57

Met = metionina, Cis = cistina ([1]No esencial), His = histidina, Tre = treonina, Arg = arginina, Val = valina, Fen = fenilalanina, Ile = isoleucina, Leu = leucina, Lis = lisina. Harina de sardina entera Monterrey, lote 2005 (Conservera San Carlos, Puerto San Carlos, B.C.S., México). HSAC = Harina de subproductos de almeja Catarina, fabricada en el CIBNOR.

Tabla 12. Digestibilidad aparente (% ± desviación estándar) de materia seca (DAMS) y proteína (DAP) de las harinas de pescado y subproductos de almeja Catarina (tomado y adaptado de Terrazas-Fierro, 2010).

Ingrediente	DAMS	DAP
Harina de pescado (sardina 66.2% PC)	76.2±2.3	84.9±1.3
Harina de subproductos de almeja Catarina	67.2±2.7	86.8±1.4

La presencia de la HSAC como fuente proteica en los alimentos no afectó la sobrevivencia de los organismos; el valor más bajo se observó en los organismos alimentados con el alimento 25%Sus (87.5%), pero las muertes de los camarones fueron por cuestiones de manejo, no atribuibles a las condiciones de cultivo en el laboratorio.

Un factor que hay que tomar en cuenta es el contenido de humedad en la harina de pescado utilizada (3.54%), ya que como lo mencionan Cruz-Suárez *et al., (*1998), la calidad de la proteína y la composición nutricional de las harinas de pescado varía dependiendo de la frescura y del tipo de materia prima, así como de la temperatura de secado, cabe la posibilidad de que la harina de pescado utilizada en la dieta control pudo tener alguna influencia, ya que a partir de porcentajes debajo de 6% indicarían algún sobrecalentamiento (Speck, 1988 en García Galano et al. 2007). No obstante, Terrazas-Fierro reportó una digestibilidad de proteína elevada para la harina de sardina (84.9%), y la digestibilidad de materia seca fue de 76.2%, siendo esta mayor a la que presentó la HSAC, que fue de 67.2% (Tabla 12).

El crecimiento de los camarones no se vio afectado de manera significativa por la inclusión de la HSAC en el alimento. El peso promedio final y tasa de crecimiento fueron similares entre los diferentes niveles de inclusión en los alimentos experimentales, así como el alimento control, a diferencia de lo encontrado por otros autores; Carolin y Jose (1995), Mathew y Sherief (1999) reportaron que la utilización de harina de almeja permitió mejorar el crecimiento del pez chano (*Chanos chanos),* el pez Ángel (*Pterophyllum scalare)* y el pez cebra (*Bruchydanio rerio).*Asimismo, el uso de una harina de subproductos de almeja

mejoró el crecimiento de la trucha arco iris (Goodrich *et al.*, 1984). Guillaume y Ceccaldi (1999) mencionan que los principales factores que determinan un buen crecimiento en los camarones son la cantidad y calidad de la proteína en la dieta. El contenido de proteína de los alimentos usados aquí fue cercano al 37% como se observa en la composición proximal de los alimentos (Tabla 8), por lo que los resultados se pueden considerar como buenos, ya que se pudo sustituir totalmente la harina de pescado. El hecho de haber usado alimentos isoproteicos, seguramente contribuyó a amortiguar las diferencias en el contenido de aminoácidos de las harinas de sardina y almeja. Desafortunadamente, en el presente estudio no se cuantificaron los aminoácidos en los alimentos como para confirmarlo. No obstante que no se detectaron diferencias significativas en el crecimiento ponderal durante los 45 días que duró el experimento, existe una tendencia a que el peso de los animales sea menor a medida que la sustitución de la harina de pescado es mayor. Sería conveniente realizar un bioensayo de más larga duración, para verificar si esas pequeñas diferencias en el peso de los camarones llegan a ser significativas en cultivos de mayor duración.

Estudios recientes han demostrado que en alimentos comerciales con niveles de proteína de 30 a 35% se pueden incluir niveles bajos de harina de pescado (15-25%) sin comprometer el desarrollo de los camarones (Fox *et al*., 2004) esto concuerda con los resultados obtenidos aquí, ya que bajo las condiciones de cultivo utilizadas, la proteína de la HSAC se puede utilizar para sustituir a la de la harina de pescado, sin afectar de manera significativa el crecimiento del camarón *L. vannamei*.

Se detectaron diferencias en el alimento consumido por los camarones, observándose una disminución conforme aumentó la sustitución de la harina de pescado (Tabla 9), aunque, únicamente con el alimento donde se sustituyó el 100% de la harina de pescado (100%Sus) el consumo fue significativamente inferior al obtenido con alimento control. Es plausible pensar que existió mayor atractabilidad y palatabilidad en el alimento control con harina de pescado, ya que el consumo de los alimentos generalmente está relacionado con el contenido de atractantes en el alimento, y la harina de pescado es un excelente atractante (Álvarez *et al.*, 2005). El contenido de harina de pescado en los alimentos probablemente ayudó a mantener cierta atractabilidad, pero al estar completamente ausente en el alimento 100%Sus, su consumo fue menor, lo que deja pensar

que la atractabilidad de la HSAC fue menor que la de la harina de sardina entera. No obstante, para corroborarlo se debe realizar una prueba específica de atractabilidad Cabe mencionar que en ocasiones un mayor consumo de alimento puede estar relacionado con una deficiencia nutricional en el mismo o en el organismo, como lo menciona Goytortúa-Bores (1993), por lo que no siempre el alimento más consumido resulta ser el mejor. En nuestro experimento, una de las explicaciones más plausibles es que el alimento menos consumido (100%Sus) haya sido mejor aprovechado por los organismos, lo cual parece corroborarse al comparar los FCA obtenidos. El FCA es considerado como uno de los parámetros más importantes en la evaluación de alimentos, ya que toma en cuenta no sólo el alimento consumido, sino también el incremento en biomasa de los organismos, de manera que es una medida de la eficiencia con que es utilizado el alimento por los camarones. El mejor valor de FCA fue obtenido al sustituir el 100% de la harina de pescado con HSAC (alimento 100%Sus) con un valor de 1.59, a diferencia del alimento control que tuvo un mayor FCA (2.0), y esto parece estar relacionado con una mejor digestibilidad del alimento 100%Sus, ya que tuvo mejor digestibilidad de materia seca, proteína y carbohidratos que el alimento control. Algo similar fue encontrado por Sivanandavel *et al*,. (2007) encontrando un FCA de 1.8 utilizando un alimento donde la proteína fue aportada por una harina de almeja y un valor mayor de 2.1 en el alimento control proteína aportada por harina de pescado.

Cruz-Suárez (1994) menciona que los valores de eficiencia proteica son un buen criterio para evaluar fuentes proteínicas en alimentos balanceados. En el presente trabajo, la mejor eficiencia proteica se obtuvo también con el alimento 100%Sus, lo que parece confirmar lo observado para la digestibilidad de proteína y el FCA. Sin embargo, la interpretación que se haga de estos valores tiene que hacerse con reservas, ya que este indicador presume que toda la proteína del alimento es utilizada para crecimiento (Tacon, 1989).

La harina de calamar, que se ha propuesto como alternativa para sustituir las harinas de pescado (Cruz-Suárez y Guillaume, 1987; Fenucci *et al.,* 1988; Akiyama, 1991; Liao y Su, 1998; Siccardi *et al.,* 2006) comparte algunas características con la HSAC, ya que ambas son de moluscos, de origen marino y tienen alto contenido de proteína (>50%). Sin embargo, se ha visto que usar la harina de calamar a niveles de inclusión altos en el

alimento, puede repercutir negativamente sobre el desarrollo de los camarones, por lo que se recomienda su inclusión en el alimento a niveles de 5-6% (Fenucci *et al.*, 1988, Akiyama, 1991). De cierta manera, esto no se observó aquí al utilizar la HSAC, ya que ésta se incluyó hasta un nivel de 44.8% en el alimento para camarón sin afectar significativamente el crecimiento, por lo que se considera los resultados obtenidos aquí a nivel de laboratorio, permiten sugerir que, desde el punto de vista nutricional, la harina de los subproductos de almeja Catarina es un ingrediente prometedor como sustituto parcial o inclusive total de la harina de pescado y valdría la pena evaluarla en alimentos fabricados a nivel industrial, así como experimentar su uso a una escala piloto-comercial en estanques de cultivo de camarón, mismo que de llevarse a cabo y se obtuvieran resultados similares, beneficiaría a la industria acuícola de la región.

7.2 Efecto del nivel de sustitución de la proteína de la harina de pescado con proteína de harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, sobre la digestibilidad de nutrientes en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

La evaluación de la digestibilidad resulta esencial en la formulación de alimentos que cubran los requerimientos nutricionales de los organismos, así como para permitir la sustitución efectiva de ingredientes con base en su costo y para reducir la producción de desperdicios contribuyendo a una menor contaminación (Siccardi *et al.* 2006), pudiendo en este caso disminuir la cantidad de proteína o utilizar fuentes alternas de proteína de menor costo (Cruz-Suárez *et al.,* 2002).

La digestibilidad aparente de materia seca (DAMS) y proteína (DAP) representa una buena estimación de la materia orgánica e inorgánica y proteína que contiene un alimento, y que es digerida y absorbida en el tracto digestivo de los organismos (Siccardi *et al.* 2006). Los coeficientes de DAMS de los alimentos evaluados aquí se vieron favorecidos en cierta medida por la inclusión de la harina de subproductos de almeja Catarina como sustituto de la proteína de la harina de sardina entera, ya que el alimento 50%Sus tuvo el valor más alto de DAMS (84.7%), existiendo diferencias significativas con los otros alimentos experimentales y el control. Esto es un reflejo de la digestibilidad de la proteína , ya que con este mismo alimento se obtuvo el valor más alto de DAP (92.9%), además del alimento 100%Sus que tuvo un valor de 92.2%. Esto concuerda por lo encontrado por Terrazas-Fierro *et al.*, **(**2010) ya que al evaluar la harina de subproductos de almeja como ingrediente, encontró una buena digestibilidad aparente de proteína (86.8.0%), que ligera, pero no significativamente mayor, a la harina de sardina entera (84.9%) (Tabla 12). Sin embargo, no concuerda con la DAMS de la HSAC que tuvo un valor relativamente bajo (67.2%) versus la harina de pescado, posiblemente influenciado por el alto nivel de ceniza (14.5%) y el alto nivel de extracto etéreo (12.4%) que presentaba el alimento experimental usado por Terrazas-Fierro *et al.*, **(**2010). Akiyama *et al.*, (1993) recomienda valores máximos de cenizas de 15% en alimentos para camarón; un exceso de estos compuestos tiende a disminuir la digestibilidad de la materia seca, ya que la ceniza es poco digerible

(Cruz-Suárez *et al.*, 2004). Al analizar la composición química de los alimentos utilizados aquí, notamos que el contenido de cenizas fue aumentando conforme se fue sustituyendo la harina de pescado, dado que la HSAC contiene más ceniza que la harina de sardina, sin embargo, aún en el alimento con la mayor inclusión de HSAC (100%Sus), se encuentra dentro de los valores recomendados.

Generalmente, las harinas de pescado tienen los valores más altos de DAP, solo por debajo de ingredientes purificados; Marín-Zaldivar *et al.*, (2002) mencionan que el valor deseado de digestibilidad de proteína debe ser superior al 80%; en el presente estudio, el alimento 50%Sus y el 100%Sus se encuentran por arriba de dicha recomendación (DAP 92.9% y 92.2%, respectivamente), registrando aumento de la DAP conforme aumentó la inclusión de HSAC, por lo que se considera como altamente digerible. En el estudio que realizaron Siccardi *et al.*, (2006) sobre diferentes tipos de harina de calamar (una harina de hígado, dos harinas de músculo y dos harinas de calamar entero), encontró valores de digestibilidad en el rango de 61.8% – 74.7% de DAMS y 66.4 – 86.6% de DAP, mencionando que el mayor contenido de proteína se encuentra en la harina obtenida a partir del músculo, y esta proteína es altamente digestible, así que los resultados obtenidos en el presente estudio pueden atribuirse a una excelente calidad de la HSAC que aunque fue obtenida de subproductos, mostró tener alta digestibilidad.

Sudaryono *et al.*, (1996) evaluaron combinaciones de subproductos de almeja y cabeza de camarón, y encontraron alta digestibilidad de proteína (92.0-92.8%), poniendo en evidencia que las harinas de almeja son altamente digeribles, lo que concuerda con los resultados encontrados en el presente estudio para los alimentos que contenían HSAC, por lo cual existe un potencial como fuente alterna de proteína. Los bajos valores de CUDA de proteína de la dieta control pueden deberse a diferencias en la composición química, causadas por el procesamiento de la harina de pescado.

Las harinas de origen animal generalmente tienen un alto contenido proteico y un perfil de aminoácidos bien balanceado, pero al igual que las harinas de pescado, hay inconsistencias en la calidad, debido a diferencias en el procesamiento y en la calidad de la materia prima (Siccardi *et al.*, 2006). Estos resultados deben utilizarse con cautela, tomando

en cuenta que las harinas de subproductos históricamente han sido identificadas como productos con un alta variabilidad en su composición química, con elevados niveles de cenizas, baja digestibilidad y altos contenidos de grasas saturadas no adecuadas para alimentos acuícolas (Cruz-Suárez *et al.*, 2004).

Se sabe que los crustáceos utilizan generalmente bien los lípidos como fuente de energía, aunque se ha reportado que un contenido de lípidos en la dieta mayor al 15%, produce un retardo en el crecimiento de *Penaeus monodon* (Bautista, 1986). La harina de subproductos de almeja Catarina no solo es una fuente rica en proteína, sino que también tiene un aporte de lípidos para el camarón, esto demostrado en la composición química proximal de la HSAC (Tabla 7). Considerados como el segundo nutriente más importante, después de las proteínas, los lípidos son esenciales para la función metabólica del camarón, pueden ser utilizados inmediatamente o almacenados como fuente de reserva para su posterior uso en la formación de tejidos y la muda (Teshima *et al*., 1977). Los valores de digestibilidad aparente de lípidos exhibieron diferencias significativas, dándose el mayor aprovechamiento en los alimentos 25%Sus y 50%Sus, con valores de 83.9% y 85.1% respectivamente, aún por arriba del alimento control que contenía en su mayor parte harina de pescado, por lo que podemos inferir que los lípidos de la HSAC son de buena calidad y los coeficientes de digestibilidad encontrados se podrían considerar como altos, si se les compara con los resultados de Galicia-González (2003) donde encontró una de DAL superior al 82% al utilizar un hidrolizado de langostilla como aditivo en alimentos para *Litopenaeus vannamei*. Goytortúa-Bores *et al.* (2006) encontró una DAL de 84% al hacer un reemplazo parcial del 15% de proteína de pescado por proteína de harina de langostilla en alimentos para *Litopenaeus vannamei.*

La digestibilidad de los carbohidratos (DAC) en los camarones varía de acuerdo al tipo de harina, origen y nivel de inclusión. Es importante su conocimiento ya que los carbohidratos pueden ser almacenados en forma de glucógeno en el hepatopáncreas y participar en la formación de glucosamina, acumulándose en la epidermis, en preparación de la muda (Cuzon *et al.*, 2000), proceso crucial de los crustáceos, y en los camarones ocurre frecuentemente (aprox. cada 10 días en organismos de 3-4g de peso). En este trabajo

se encontraron diferencias significativas al evaluar la DAC, y ésta se vio afectada por la inclusión de HSAC, encontrando un mejor aprovechamiento en el alimento 50%Sus. En el presente estudio, se manejaron valores de carbohidratos en los alimentos de 44% al 46% y se obtuvieron valores de digestibilidad aparente de carbohidratos de 97.6 a 97.8%, lo cual demuestra un excelente aprovechamiento de los alimentos. Una posible explicación a estos resultados es que los camarones tienen las enzimas necesarias (amilasas) para hidrolizar los carbohidratos complejos que están presentes en los alimentos, como son el glucógeno y el almidón, los cuales tienen un valor nutricional muy importante para los camarones peneidos como fuentes de energía (Galicia-González, 2003).

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la harina de subproductos de almeja Catarina puede servir como sustituto parcial y total de la harina de pescado en alimentos sin afectar su crecimiento, además de mejorar la digestibilidad de los alimentos a partir del 25% de inclusión de HSAC, razón por la cual se recomienda su uso en la fabricación de alimentos balanceados para juveniles de *L. vannamei*.

8. CONCLUSIONES

- La inclusión de la harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, como sustituto parcial o total de la proteína de harina de sardina entera, tuvo efectos distintos sobre los parámetros zootécnicos y de utilización digestiva del alimento en juveniles del camarón *L. vannamei*.

- No se detectaron efectos significativos sobre la sobrevivencia, el peso final o la tasa de crecimiento durante los 45 días del estudio en condiciones de cultivo intensivo en laboratorio.

- A medida que aumentó el nivel de inclusión de la harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, fue disminuyendo el consumo de éste, y por ende, la cantidad de proteína ingerida. Este efecto fue significativo particularmente en el alimento donde se sustituyó totalmente la harina de pescado (100%Sus), comparado con el alimento control. Sin embargo, con dicho alimento se obtuvieron los mejores valores de eficiencia proteica y de factor de conversión del alimento, indicando una mejor utilización de la proteína.

- A medida que aumentó el nivel de inclusión de la harina de subproductos de almeja Catarina en el alimento, aumentó la digestibilidad aparente de materia seca, proteína, lípidos y carbohidratos, encontrándose los valores más altos al sustituir el 50% de la proteína aportada por la harina de pescado.

- Los resultados de este estudio demuestran que, desde el punto de vista nutricional, la harina de subproductos de almeja Catarina puede considerarse como un ingrediente de buena calidad, ya que permite sustituir parcial y totalmente a la harina de sardina entera en el alimento para juveniles de camarón, sin afectar significativamente el crecimiento, y además mejora la digestibilidad de los nutrientes del alimento.

9. RECOMENDACIONES

- Es sabido que la calidad y frescura de cualquier organismo marino disminuye inmediatamente después de la captura y muerte del animal, y pasado el tiempo, aún cuando esté congelado, existe una degradación enzimática natural (Maeda-Martínez, 2002). Aquí no se llevó a cabo un análisis enzimático y/o microbiológico de los subproductos de almeja como complemento del estudio, sin embargo, para posteriores estudios, se aconseja realizarlos para cada lote de fabricación.

- Determinar la composición química en los tejidos de los camarones, con el fin de detectar posibles variaciones en los nutrientes y poder relacionarlos con el consumo de los alimentos.

- Evaluar el uso de la harina de subproductos de almeja Catarina en la fabricación de alimentos comerciales para camarón a nivel de estanques de cultivo en granja, a fin de determinar, por medio de un modelo económico, la relación costo-beneficio.

- Estudiar la posible instalación de plantas procesadoras de los subproductos de almeja catarina cerca de los lugares de extracción (Bahía Magdalena y Bahía Concepción en BCS.) para una mayor disponibilidad de esta materia prima, pudiendo condicionar la extensión de permisos de la pesca de almeja catarina a la entrega de subproductos en dichas plantas procesadoras.

10. BIBLIOGRAFÍA

- **Akiyama, D.M. and Dominy, W.G.** 1989. Penaeid Shrimp Nutrition for the Commercial Feed Industry. In: Texas Shrimp Farming Manual. Vol. I. Grow-out Technology. Texas Agricultural Extension Service and Texas A&M University, Sea Grant College Program. 50p.
- **Akiyama, D.M.** 1991**.** Soybean meal utilization by marine shrimp. En: Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop Thailand and Indonesia, September 19-25, 1991. American Soybean Association, Singapore. 207-225 pp.
- **Akiyama, D.M., Dominy, W.G and Lawrence, A.L.** 1993. Nutrición de camarones peneidos para la industria de alimentos comerciales. 43-79 p. En: Cruz-Suárez, L.E**.,** Ricque-Marie, D y Mendoza-Alfaro, R. Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuacultura. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- **Amaya E., Davis A.D. y Rouse D.B.** 2007. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under ponders conditions. Aquaculture. 262: 393-401.
- **Álvarez, J.J.S., Galindo, J., Barbaro Jaime, B.A. y Pelegrín, E.** 1999. Empleo de diferentes niveles de proteína en dietas prácticas para el engorde del camarón *Penaeus schmitti* en estanque de tierra. 665-673 pp. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D. y Mendoza, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 11-13 de noviembre de 1996. Monterrey, N.L., México.
- **AOAC,** 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Vol. I, 16th ed. Washington, D. C., USA. 1234 pp.
- **Arias de León, C.** 2002. Proyecto de prefactibilidad para la instalación de una granja comercial de almeja Catarina en la Bahía de La Paz, B.C.S. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, B.C.S. 109 pp.
- **Bautista, M. N.** 1986. The response of *Penaeus monodon* juveniles to varying protein/energy ratios in test diets. Aquaculture. 53: 229-242.
- **Bligh, E.G. and Dyer, W.J.** 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- **Cahu, C.** 2000. Dietas para reproductores de camarón y su efecto en la calidad larvaria. pp. 65-72 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.

- **Carolin, E and Jose, S.** 1995. Two novel protein sources of marine origins for the nursery rearing of *Chanos chanos* fry Fishery technology. Society of Fisheries Technologists (India). Kochi [FISH. TECHNOL. SOC. FISH. TECHNOL. (INDIA)]. 32(1): 14-18.
- **Casas Valdez, M. y Ponce Díaz, G.** 1996. Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. CIBNOR (Eds.). La Paz, B. C. S., México.
- **Civera, R., Goytortúa, E., Rocha, S., Nolasco, H., Vega-Villasante, F., Balart, E., Amador, E., Ponce, G., Colado, G., Lucero, G., Rodríguez, C., Solano, J., Flores-Tom, A., Monroy, J. y Coral, G.** 2000. Uso de la langostilla roja en la nutrición de organismos acuáticos 325-368 p. En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C. J., Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L. E. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del Cuarto Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 15-18 de Noviembre de 1998. La Paz, B.C.S., México.
- **Cruz-Suárez, L.E. and Guillaume, J.** 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid Shrimp. Journal of the World Aquaculture Society. 18:209
- **Cruz-Suárez L.E., Ricque D., and AQUACOP.** 1992. Effect of squid meal on growth of *Penaeus monodon* juveniles reared in pond pens and tanks. Aquaculture 106: 293-299.
- **Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, J.A. Martínez-Vega and P. Wesche-Ebeling.** 1993. Evaluation of two shrimp by-product meals as protein sources in diets for *Penaeus vannamei*. Aquaculture 115(1-2):53-62.
- **Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie, D., Pinal-Mansilla J.D. and Wesche-Ebelling P.** 1994. Effect of different carbohydrate source on the growth of *Penaeus vannamei*: economical impact. *Aquaculture*, 123: 349-360.
- **Cruz-Suárez, L.E.** 1996. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. 207-250 p En: Eds. Cruz Suárez, L.E; Ricque Marie, D. y Mendoza, R. Memorias del 3er Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, Nuevo León. 11-13 noviembre, 1996. 207-232 p.
- **Cruz-Suárez, L.E.** 1998. Consideraciones fundamentales en la compra de un alimento balanceado para camarón. Panorama Acuícola. 3(2): 26.
- **Cruz-Suárez, L.E., Marín-Zaldívar, L.F., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto- López, M.G., Guajardo-Barbosa, C. y Salinas-Miller, A.** 2002. Digestibilidad de alimentos usados por los productores de camarón en México. Panorama Acuícola. 7 (6):22-23.
- **Cruz-Suárez, E.L., Nieto-López, M.G., Ricque-Marie, D., Guajardo-Barbosa, C. y Scholz, U.** 2004. Uso de harina de subproductos avícolas en alimentos para *Litopenaeus vannamei*. En: Cruz-Suárez, E.L., Ricque-Marie, D., Nieto-López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México. Pp. 215-236.

- **Cervantes-Trujano, M. y Hernández-Vergara, M. P.** 2007. Taller de maricultura AQUAMAR 2007. Nutrición en cultivos marinos.
- **Chacon, N., Hudson W. A., Palmeros, M. y Segura R.** 2008 El grampín. Boletín Informativo para los que viven del mar. Vol. II No.2 May-Jun. La Paz B.C.S.5pp.
- **Cho C.Y. and Slinger S.J.** 1979 Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout.. Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fish feed Technology. Hamburg. 239-147 pp.
- **Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca.** 2008. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). 212pp.
- **Comité de Sanidad Acuícola de Baja California Sur A.C.** Web: http://www.cesabcs.org/index-1.html (Ingresado en Junio de 2010).
- **Davis, A., Samocha, T.M., Bullis, R.A., Patnaik, S., Browdy, C., Stokes, A. and Atwood, H.** 2004. Practical Diets for *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931): Working Towards Organic and/or All Plant Production Diets. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villareal, D., Scholz, U. y González, M. 2004. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre. Hermosillo, Sonora, México.
- **Dreywood, R.** 1946. Qualitative test for carbohydrate material. Ind. Engng. Chem. Analyt. Edm. 18: 499-505.
- **Durán-Riveroll**, L. 2006. Baja California Sur: el lugar en México de la oportunidades acuícolas. Panorama Acuícola Magazine**,** 11: 61-69.
- **FAO.** 2008. El estado mundial de la pesca y acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma, 196 pp.
- **FAOSTAT.** Web: http://fao.org. (Ingresado en 2009).
- **Fennuci, L.L., Zein-Eldin, Z. P. and Lawrence A.L.** 1988. The nutritional response of two Penaeid species to various levels of squid meal in a prepared feed. Word Maricul. Soc. 11:403-409.
- **Fenucci, J. L. y Fernández-Jiménez, A.** 2004. Acción de las vitaminas en la dieta de camarones penaeoideos. En: Cruz Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Nieto López, M. G., Villarreal, D., Scholz, U. & González, M. (Eds.), Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición. Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México, 126-144 pp.
- **Fox, C.J., Blow, P., Brown, J.H., and Watson I.,** 1994. The effect of various processing methods on the physical and biochemical properties of shrimp head meals and their utilization by juvenile *Penaeus monodon.* Aquaculture 122:209-226
- **Fox, J.M., Lawrence, A.L., Smith, F.,** 2004. Development of a low-fish meal feed formulation for commercial production of Litopenaeus vannamei. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16–19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México.

- **Galicia-González, A.** 2003. Utilización de hidrolizado de langostilla (Pleuroncodes planipes) como aditivo en alimentos para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei.* Maestría en Ciencias Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales. Programa de Posgrado del CIBNOR. La Paz, México. 131 pp.
- **Galicia-González, A.** 2009. Uso del cártamo (*Carthamus tinctorius L*.) como ingrediente en alimentos para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. Doctor en Ciencias. La Paz, B.C.S México. 172 pp.
- **García-Ortega, S.** 1988. Desarrollo tecnológico para la obtención de crema de almeja enlatada a partir de olán y gónada de almeja Catarina (*Argopecten circularis*) Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, B.C.S. 137pp.
- **García Galano T., Villarreal C. H. y Fenucci J. L.** 2007. Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceado para camarones peneidos. Ed. Universitaria de Mar del Plata. Argentina. 263 pp.
- **González-Félix, M. L. y Perez-Velazquez, M.** 2002. Current status of lipid nutrition of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- **Goodrich, C. L., Barnetta, S. M., Levineb, G. and Simpsona K. L.** 1984. The utilization of clam waste meal as a protein source for rainbow trout *Salmo gairdneri* Aquacultural Engineering, 3(4): 289-301 pp.
- **Goytortúa-Bores, E.** 1993. Evaluación de la digestibilidad de dietas compuestas a base de harina de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) y su efecto en el crecimiento del camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. S.L.P. 112 pp.
- **Goytortúa-Bores E., Civera-Cerecedo, R., Rocha-Meza, S. and Green-Yee, A.** 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp Litopenaeus vannamei. Effects on growth and in vivo digestibility. Aquaculture 256: 414-422.
- **Guillaume, J. and Ceccaldi, C**. 1999. Physiologie et alimentation des posissons ert crustacés. Pp 297-312. In: Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. and Métailler, R. (Eds), Nutrition et alimentation des poisons et crustacés. IFREMER. Paris, France. 489 pp.
- **Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. y Metailler R.** 2004. Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Ed. Mundi-Prensa. España. 475 pp.

- **Gutiérrez-Leyva, R.** 2002. Calidad nutricional de dos productos a base de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) como fuente de proteína o aditivo alimentario en alimentos

balanceados para juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, B.C.S. 96 pp.

- **Gutiérrez-Leyva, R.** 2006. Uso de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp. En alimentos balanceados para el camarón Litopenaeus vannamei: Efectos sobre el crecimiento y la digestibilidad in vivo. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S. 87 pp.
- **Herrera-Andrade, M.** 2008. Digestibilidad in vivo e in vitro de ingredientes utilizados en alimentos para el cultivo del camarón blanco del pacifico *Litopenaeus vannamei*. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Durango. DGO. 90 pp.
- **Kitabayashi, K., Kurata, H., Shudo, K., Nakamura, K. y Ishikawa, S.** 1971. Studies of formula feed for kuruma prawn I: On the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, 65: 91-107.
- **Lee, P. and Lawrence A.** 1997. Digestibility. 194-260. En: Crustacean Nutrition. Abramo, L.(Ed.)World Aquaculture Society, Louisiana. 587pp.
- **Liao, W. and Su, L.** 1998**.** Effect on the growth of *Penaeus monodon* by supplementation of squid viscera meal. J.Shanghai Fish.Univ./Shanghai Shuichan Daxue Xuebao. 7: 268-269.
- **Maeda Martínez, A. N.** 2002. Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: ciencia y acuicultura. McGraw-Hill. México. 476 pp.
- **Marín-Zaldivar, L.B., Tapia-Salazar, M., Guahardo-Barbosa, C., Nieto-López, M.G., Salinas-Miller, A., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E**. 2002. Estudio exploratorio del grado de digestibilidad de los alimentos comerciales para camarón en México. Pp. 265-281.Congreso Internacional Virtual de Acuicultura 2002. CIVA. Web: htpp://www.civa2002.org.
- **Mathew, P.M., Sherief, P.M.** 1999. Effects of dietary protein source on growth and survival of Angelfish and Zebrafish. The Fourth Indian Fisheries Forum, Proceedings. 24-28 November, 1996, Kochi, Kerala. 255-257 pp.
- **Mendoza, R., Monterrey, J. y Aguilera, C.** 1996. Quimio atracción en crustáceos: papel de moléculas homologas. pp.1-35. En: Cruz-Suárez, L.E; Ricque Marie, D. y Mendoza, R. (Eds.). Memorias del 3er. Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, N.L. 11-13 noviembre, 1996.
- **Ojeda-Ruíz de la Peña, M.** 1993. Aprovechamiento integral de la almeja Catarina (*Argopecten circularis*) mediante la Elaboración de Ensilado Químico a Partir de sus Residuos Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, B.C.S. 92 pp.
- **Olvera-Novoa, M.A.** 1994. Cuantificación de óxido crómico en heces y alimentos. Nutrition of fish and Crustaceans. pp. 1-33. En: A Laboratory Manual FAO (Ed.). Project. Field Document 19.
- **Peninsular Digital Diario**, 2010. http://peninsulardigital.com/?p=6907

- **Ramos-Díaz R., Miranda-Valdés I. y Molina-Segovia, C.** 2001. Consumo y digestibilidad aparente de tres ingredientes marinos locales incorporados en dietas prácticas para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (boone, 1931). Estud. Oceanol. 20: 43-50.
- **Ricque Marie, D., Cruz Suárez L. E., Camarena Conchas M. y Melo del Ángel A. L.** 2000. Uso de coextruídos de subproductos de camarón en dietas para camarón**.** pp. 366-397 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque- Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- **Rivas-Vega, M.E.** 2006. Valor nutricional del fríjol yorimón (*Vigna unguiculata* L. Walp) para camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, CIBNOR. La Paz, Baja California Sur. 89p.
- **Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Brito, R., Chimal, M. E. y Van Worhoudt, A.** 2000. El metabolismo de los carbohidratos de *Litopenaeus setiferus*, *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*. pp. 340-359. En: Cruz -Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M. A. & Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre 2000. Mérida, Yucatán, México.
- **Scneider, L.W.** 1985. Nutrición Conceptos Básicos y aplicaciones. Mc Graw Hill. USA. 571 pp.
- **Shiau, S.Y.** 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, 164, 77-93.
- **Siccardi, III. A.J., Lawrence, A.L., Gatlin, III., D.M., Fox, J.M., Castille, F.L., Perez-Velázquez, M. y González-Félix, M.L.** 2006. Digestibilidad Aparente de Energía, Proteína y Materia Seca de Ingredientes Utilizados en Alimentos Balanceados para el Camarón Blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. 213-237 pp. En: Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VIII. Memorias del Octavo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 15-17 Noviembre de 2006. Monterrey, Nuevo, México.
- **Silva-Laguna, A.L**. 2005. Uso socioambiental de la concha de almeja catarina (*Argopecten circularis*) en la fabricación de mosaicos". Tesis (Maestro en Economía del Medio Ambiente y Recursos Naturales) Universidad Autónoma de Baja California Sur., La Paz, B.C.S.
- **Sistema Estatal de Información Pesquera y Acuícola de Baja California Sur** (SEIPABCS). 2010. http://sepesca.bcs.gob.mx/seipa/app/index.php
- **Sivanandavel, *P.*, Soundarapandian, P., Kannupandi, T.** 2007. Different Feed Ingredients on Growth, Survival, Production and Feed Conversion Ratio of Cage Reared White Shrimp, *Penaeus indicus* at Vellar Estuary Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2: 216-225. pp.

- **Sokal, R. R. and Rohlf, F. J.** 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. W. H. Freeman. New York, USA, 887 pp.
- **Suárez, A.J., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G. y Suárez A.** 2009. Substitution of fish meal with plant protein source and energy budget for White shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Aquaculture. 289, 118-123.
- **Sudaryono, A.; Hoxey, M. J.; Kailis, S. G. and Evans, L. H.** 1995. Investigation of alternative protein sources in practical diets for juvenile shrimp, *Litopenaeus monodon.* Aquaculture. 134, 313-323.
- **Sudaryono, A., Tsvetnenko, E. and Evans. L.H.** 1996. Digestibility studies on fisheries by-product based diets for *Penaeus monodon*. Aquaculture, 143(3-4):331-4.
- **Tacon, A.G.J.** 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. FAO. Italia. 572 pp.
- **Tacon, A.G.J.** 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. Redmond, Washington, U.S.A. 454 pp.
- **Tacon, A.G.J. and D.M. Akiyama**. 1997. Feed ingredients for crustaceans. In: Crustacean Nutrition (L.R. D'Abramo, D.E. Conklin and D.M. Akiyama, editors), Advances in World Aquaculture, Volume 6. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA. 411-472 pp.
- **Tacon, A.G.J., Dominy Warren G. y Pruder. G.D.** 2000. Tendencias y retos globales de los alimentos para el camarón. Pp. 1-27. En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- **Tacon, A. G. J.** 2002. Thematic Review of Feeds and Feed Management Practices in Shrimp Aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 69 pp. Web: http://www.enaca.org/shrimp.
- **Terrazas-Fierro, M.** 2010. Digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca, proteína y aminoácidos de ingredientes de origen marino y terrestre, y su aplicación para el estudio de requerimientos nutricionales en juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Doctorado. Programa de Posgrado del CIBNOR. 167 p.
- **Terrazas-Fierro, M., Civera-Cerecedo, R., Ibarra-Martínez, L., Goytortúa-Bores, E., Herrera-Andrade, M. y Reyes-Becerra, A. 2010.** Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 308 (2010) 166–173.
- **Teshima, S., Kanazawa A., and Okamoto H.** 1977. Variation in Lipid Classes during the Molting Cycle of the Prawn *Penaeus japonicas.* Marine Biology 39, 129-136

- **Villalejo-Fuerte, R.** 1992. Aspectos reproductivos de a almeja Catarina *Argopecten circularis* (Sowerby, 1935) en Bahía Concepción, B.C.S. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-I.P.N La Paz B.C.S., México. 96 pp.
- **Yoshitomi, B., Aoki, M., Oshima, Si.** 2007. Effect of total replacement of dietary fish meal by low fluoride krill (*Euphausia superba*) meal on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* in fresh water. Aquaculture. 266: 219-225.