

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



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

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

RANFERI GUTIÉRREZ LEYVA

LA PAZ, B.C.S., OCTUBRE DE 2006



SIP-14

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO****ACTA DE REVISION DE TESIS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 11:00 horas del día 5 del mes de Septiembre del 2006 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"USO DE HARINAS DE *Macrocystis pyrifera* Y *Sargassum* spp. EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA EL CAMARON *Litopenaeus vannamei*: EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y DIGESTIBILIDAD *in vivo*"

Presentada por el alumno:

GUTIÉRREZ

Apellido paterno

LEYVA

materno

RANFERI

nombre(s)

Con registro:

B	0	4	1	1	9	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORADirector de tesis
PRIMER VOCAL

DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO

PRESIDENTE

DRA. SILVIE DUMAS

SEGUNDO VOCAL

MC. JOSÉ LUIS ORTIZ GALINDO

SECRETARIO

DRA. MA. MARGARITA CASAS VALDEZ

Co-Directora

TERCER VOCAL

MC. ERNESTO GOYTORTÚA BORES

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE

I. P. N.
CICIMAR
DIRECCION



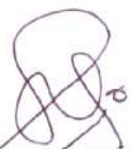
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 11 del mes Octubre del año 2006, el (la) que suscribe RANFERI GUTIÉRREZ LEYVA alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B041193 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO y cede los derechos del trabajo titulado: "USO DE HARINAS DE *Macrocystis pyrifera* Y *Sargassum* spp. EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA EL CAMARÓN *Litopenaeus vannamei*: EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y DIGESTIBILIDAD *in vivo*" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: granferi@hotmail.com, rcivera04@cibnor.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


RANFERI GUTIÉRREZ LEYVA
nombre y firma

Dedicatoria

A mis padres:

Filiberta Leyva Arreola

y

José Francisco Gutiérrez Sereno[†]

A Roberto Civera Cerecedo y M. Margarita Casas Valdez por enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para lograr objetivos.

A la familia Civera Roldan quienes apostaron en mí su confianza, por la convicción que demostraron cuando la incertidumbre no permitía vislumbrar el horizonte. Sólo puedo decirles “muchas gracias”.

Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento:

A mi director de tesis Dr. Roberto Civera Cerecedo y codirectora de tesis Dra. M. Margarita Casas Valdez, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.

A la Dra. Sylvie Dumas y al MC. José Luis Ortiz Galindo por sus valiosas sugerencias, acertadas opiniones y valiosas críticas al discutir los resultados de este trabajo. Gracias por aceptar formar parte del Comité Tutorial, revisor y jurado de examen.

Al MC. Ernesto Goytortúa Bores por su inestimable ayuda en la parte operativa, sus valiosos comentarios y críticas acertadas durante mi estancia en el laboratorio de Nutrición Acuícola del CIBNOR.

A mis compañeros de batalla: Alfonso Galicia González, Martín Manuel Terrazas Fierro, Erika Ochoa Torres, Lucía Sarai Deanda, Armando Reyes Becerra, Martha Elisa Rivas Vega, Nidia Arizbel Mora Castro, Ruth Noemí Aguilar Ramírez, Ignacio Sánchez Rodríguez, Sonia Rodríguez Astudillo, Alejandro Marín Álvarez. Gracias por su calidez y compañerismo durante la realización de los experimentos.

Al personal técnico de los laboratorios del CIBNOR:

Análisis Químico Proximal (Sonia Guadalupe Rocha Meza y María Dolores Rondero Astorga). Análisis Químico de Agua (Ibán Murillo Murillo y Celina Beltrán Camacho). Nutrición Experimental (Sandra de la Paz Reyes, Carlos Ernesto Ceseña y José Gilberto Colado Durán). Fisiología Comparada (Patricia Hinojosa Baltasar). Pigmentos (Francisco Eduardo Hernández Sandoval). Gracias por las facilidades brindadas en los análisis y preparación de muestras.

Al personal técnico de los talleres del CIBNOR: Instalaciones (Sergio Maciel Serrano). Maquinado (Jorge Cobos Anaya). Mantenimiento Electromecánico (Efraín

Castillejos Pastrana). Gracias por su permanente disposición durante los momentos críticos de los experimentos, por su gran amistad y desinteresada ayuda.

Al personal de la Biblioteca “Reuben Lasker” del CICIMAR-IPN en las personas de Teresa de J. Barriga Ramírez, Laura Manzanos Peña, Juan García Rangel, Roberto León Ramírez, Lorena Arenas Barrera y Martina Verdugo Ojeda. Gracias por su paciencia e inestimable colaboración en la búsqueda de información.

Al personal de la biblioteca del CIBNOR en las personas de Ana María Talamantes Cota, María Esther Ojeda Castro, Susana Luna García, Elizabeth Guadalupe Sánchez Vázquez, Marco Antonio Díaz Serna y Edgar Yuen Sánchez. Gracias por su permanente disposición durante el trabajo de tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de maestría 188681 y al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) del Instituto Politécnico Nacional por las becas de apoyo (20050330, 20040163 y 20060513).

Al proyecto de investigación del CIBNOR AC 1.15, por el apoyo financiero, en agradecimiento al investigador responsable: Dr. Roberto Civera Cerecedo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

Por lo que más quieres, lucha y esfuérzate, por que el azar favorece a las mentes
preparadas.

Louis Pasteur

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	1
GLOSARIO.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE ANEXOS.....	12
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. ANTECEDENTES.....	19
3. JUSTIFICACIÓN.....	21
4. HIPÓTESIS.....	22
6. OBJETIVOS.....	23
5.1. Objetivo general.....	23
5.2. Objetivos particulares.....	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
6.1. Materias primas e ingredientes.....	24
6.1.1. Cosecha del alga sargazo.....	24
6.2. Formulación, diseño experimental y fabricación de los alimentos.....	25
6.3. Análisis químicos proximales y de energía de los alimentos.....	29
6.4. Estabilidad de los alimentos en el agua.....	29
6.5. Sistema de cultivo.....	30
6.6. Experimento 1. Efecto de la inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., en el alimento sobre el crecimiento de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	31
6.6.1. Organismos experimentales.....	31
6.6.2. Diseño experimental y condiciones de cultivo.....	31
6.6.3. Parámetros zootécnicos de evaluación.....	32
6.6.4. Análisis estadísticos.....	33

6.7. Experimento 2. Efecto de la inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., en el alimento sobre la digestibilidad <i>in vivo</i> en juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	34
6.7.1. Organismos experimentales.....	34
6.7.2. Diseño experimental y condiciones de cultivo.....	34
6.7.3. Análisis químicos del material fecal y de los alimentos.....	35
6.7.3.1. Carbohidratos.....	35
6.7.3.2. Lípidos totales.....	36
6.7.3.3. Óxido crómico.....	37
6.7.4. Criterios de evaluación.....	38
6.7.5. Análisis estadísticos.....	39
7. RESULTADOS	39
7.1. Composición química proximal y de energía de los ingredientes.....	39
7.2. Experimento 1. Efecto de la inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., en el alimento sobre el crecimiento de <i>Litopenaeus vannamei</i>	40
7.2.1. Condiciones de cultivo.....	40
7.2.2. Composición química proximal y de energía de los alimentos experimentales.....	42
7.2.3. Estabilidad de los alimentos en el agua	44
7.2.4. Parámetros zootécnicos del bioensayo de crecimiento.....	44
7.2.5. Análisis de varianza de dos vías aplicado a los pesos finales de crecimiento.....	52
7.3. Experimento 2. Efecto de la inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., en el alimento sobre la digestibilidad <i>in vivo</i> en juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	53
7.3.1. Composición química proximal y de energía de los alimentos.....	53
7.3.2. Estabilidad en el agua de los alimentos.....	53
7.3.3. Digestibilidad <i>in vivo</i> de los alimentos.....	55
7.3.4. Digestibilidad <i>in vivo</i> de los ingredientes.....	56
8. DISCUSIÓN	57

8.1. Experimento 1. Efecto de la inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., en el crecimiento de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	57
8.2. Experimento 2. Efecto de la inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., en el alimento sobre la digestibilidad <i>in vivo</i> en juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	64
8.2.1. Digestibilidad <i>in vivo</i> de los alimentos.....	64
8.2.2. Digestibilidad <i>in vivo</i> de los ingredientes.....	66
9. CONCLUSIONES	70
10. RECOMENDACIONES	72
11. BIBLIOGRAFÍA	73
12. ANEXOS	83

GLOSARIO

Aditivo alimentario: son compuestos que estimulan el crecimiento de los organismos como el camarón a través de un incremento en la digestión, absorción o la utilización de nutrimentos que se incluyen a bajos niveles de inclusión en el alimento. Estas sustancias pueden ser incorporadas a bajos niveles de inclusión en el alimento sin ocasionar un efecto significativo en la composición de las dietas.

Alginato: polisacárido que contienen las algas pardas de la clase Phaeophyceae, presente en forma de sus sales de sodio, potasio, magnesio y calcio de acuerdo a su naturaleza química. Son macromoléculas lineales constituidas por dos tipos de monómeros unidos el ácido β -D manurónico y el ácido α -L gulurónico con un enlace 1-4.

Alimentación a saciedad aparente: suministro de alimento sin restricción, hasta que el organismo aparentemente sacio su apetito, mismo que se evidencia por la presencia de alimento no consumido durante el tiempo de la alimentación.

Alimento funcional: alimentos que mejoran el crecimiento, metabolismo, utilización de nutrientes, defensa antioxidante, funcionamiento intestinal de los organismos, etc., y que contienen determinados minerales, vitaminas, ácidos grasos o fibra alimenticia como sustancias biológicamente activas que proporcionan un beneficio para la salud además de nutrición básica.

Alimento balanceado: es el alimento que confiere nutrimentos en cantidades y proporciones que satisfacen los requerimientos y necesidades fisiológicas de los organismos.

Atractante: sustancia(s) a la(s) que se atribuyen un estímulo de percepción y un estímulo en la ingestión del mismo.

Cenizas: Se denomina así a la materia inorgánica (sales minerales) que forma parte constituyente de los alimentos y de los ingredientes. Es el residuo inorgánico de una muestra incinerada.

Crecimiento relativo diario: estima la tasa de crecimiento a través del tiempo, expresada en porcentajes.

Eficiencia proteica: estima el índice de peso ganado por unidad de proteína consumida.

Extracto libre de nitrógeno: (E.L.N.) dentro de este concepto se agrupan todos los nutrientes evaluados dentro del análisis proximal (proteína, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas) constituido principalmente por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados. Se calcula con la fórmula $E.L.N. = 100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ ceniza} + \% \text{ fibra cruda})$.

Energía bruta: (EB) es la cantidad total de energía que pueden suministrar los alimentos, siendo la que estos liberan en su combustión completa.

Energía digestible: es la diferencia entre la EB y las calorías eliminadas en las heces, correspondiendo a la energía de la fracción digestible del alimento.

Estabilidad: La estabilidad es la propiedad del alimento para mantener su forma y composición química en el agua durante un período de tiempo.

Extracto etéreo: en la determinación bromatológica de grasas, la cantidad de estas se miden después de la extracción por solvente. Pueden hacerse ya sea con éter etílico anhidro o éter de petróleo. Para el análisis proximal de materias vegetales, siempre debe hacerse referencia al extracto etéreo y no al de grasa, para designar la porción extraída. Esto se debe a que, además de grasa, el éter extrae las grasas verdaderas (glicéridos), ácidos grasos, cétidos, esteroides, pigmentos, etc.

Extrusión: es un proceso termoplástico para dar forma a una masa de uno o varios ingredientes, alimentos, etc. haciéndola salir por una abertura especialmente dispuesta de diferentes tamaños.

Factor de conversión alimenticia: estima la cantidad de alimento (g) consumido para producir una unidad de peso del organismo (g).

Factores antinutricionales: son sustancias naturales generadas por el metabolismo de los organismos, que ejercen efectos contrarios a una óptima nutrición, reduciendo el consumo e impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrimentos por el animal. En las macroalgas se refiere a la presencia de saponinas, glucósidos cianogénicos, manitol, alcaloides y ácido tánico.

Fibra cruda: son todas las sustancias orgánicas que están formadas principalmente por glúcidos estructurales vegetales, tales como celulosa (90%) y hemicelulosa, pero también contiene algo de lignina, que es una sustancia muy poco digestible que se relaciona con la porción fibrosa de los tejidos vegetales.

Ficocoloides: término utilizado para distinguir a los hidrocoloides derivados de las algas marinas (de ficología, estudio de las algas).

In situ: en Biología (*in situ*) es un medio de examinar un fenómeno, exactamente en el lugar en donde ocurre (sin quitarlo, en un cierto medio especial, etc.).

In vitro: latín: (con) se refiere a la técnica de realizar un experimento dado en un tubo de prueba, o, generalmente, en un medio ambiente controlado.

In vivo: latín: (con) significa dentro de un organismo. En ciencia, *in vivo* refiere a la experimentación hecha en un tejido vivo de un organismo entero, vivo.

Ingrediente: materia prima u otro compuesto de la fórmula de un alimento.

Kelp: es un nombre genérico utilizado para denominar a las algas café feofitas del Orden Laminariales.

Lixiviación: es el proceso mediante el cual los componentes de una dieta artificial se disuelven en un medio acuoso.

Materia seca: es la forma habitual de medir el peso de la materia sin la humedad, la biomasa es el peso de la materia, que por lo general se expresa como el contenido de materia seca.

Nutrición: conjunto de procesos físicos y químicos que suministran la energía necesaria para los organismos y proporcionan las moléculas básicas para su organización estructural y funcional.

Óxido crómico: Cr_2O_3 , óxido de cromo (III) u óxido crómico; compuesto químico cuyo estado de oxidación más alto es el +6, aunque estos compuestos son muy oxidantes; es un marcador inerte indigerible empleado en los estudios de digestibilidad que no afecta a los procesos de digestión y aprovechamiento de los nutrimentos.

Parámetros zootécnicos: es una forma de evaluación de los parámetros productivos

Pelets: tipo de moldeado o compactación por densificación y extrusión de un producto (alimento) que es similar a los espaguetis.

Polisacáridos sulfatados: el agar y la carragenina; se denominan polisacáridos sulfatados porque contienen grupos sulfónicos con carga negativa que se combinan en las algas marinas con un ion de carga positiva como los que se encuentran en el ácido algínico.

Proteína cruda: fracción que incluye la proteína verdadera y el nitrógeno no proteico presentes en ingredientes y alimentos. Se expresa porcentualmente como proteína

cruda (Nitrógeno total x 6.25), ya que los alimentos contienen alrededor del 16% de nitrógeno ($100 \div 16 = 6.25$).

Viscosidad: es una medida de la resistencia a fluir que presentan los líquidos. Los fluidos de alta viscosidad presentan una cierta resistencia a fluir; los fluidos de baja viscosidad fluyen con facilidad. La fuerza con la que una capa de fluido en movimiento arrastra consigo a las capas adyacentes de fluido determina su viscosidad. En algas la viscosidad se refiere a la capacidad de los hidrocoloides a aumentar la viscosidad, y uno de los hidrocoloides de importancia comercial obtenidos a partir de las algas marinas es el alginato.

Sargazo: palabra que procede del portugués que quiere decir "uvas". Lo cual hace alusión a unas vesículas de aire que poseen algunas algas cuyo aspecto semeja a las uvas. *Sargassum* spp., son algas cafés de la División Phaeophyta que agrupan a diversas especies del mismo género, que crecen juntas.

Sargazo gigante: (*Macrocystis pyrifera*). Macroalgas que generalmente se localizan en zonas de sustratos rocosos cercanas a las costas a profundidades no mayores de 40 metros, en aguas templadas o frías, claras y ricas en nutrientes. Son utilizadas para consumo humano, para la producción de harina de algas y especialmente para la producción de ficocoloides (alginatos).

Sinéresis: proceso de pérdida de agua por procesos de exudación de los geles derivados de los alginatos.

Tasa de crecimiento: aumento de la talla de un individuo o de una población durante un período de tiempo en relación con su talla inicial, usualmente expresado como porcentaje.

Tasa de eficiencia proteica: índice que estima el peso ganado por unidad de proteína consumida.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Sistema de cultivo utilizado en los bioensayos de crecimiento y de digestibilidad <i>in vivo</i>	30
2	Biometrías quincenales de los organismos durante el bioensayo de crecimiento con juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	32
3	Porcentajes de materia seca retenida (MSR%) después de una hora de inmersión en agua de mar de las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento.....	44
4	Curvas de crecimiento de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentados con diferentes niveles de inclusión de harinas de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>Sargassum</i> spp., durante 45 días.....	45
5	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre la superviviencia de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	47
6	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el peso promedio final de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	47
7	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el crecimiento relativo diario de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	48
8	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el alimento consumido de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	48
9	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre la proteína ingerida de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	49
10	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el factor de conversión alimenticia de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	49

11	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre la eficiencia proteica de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento.....	50
12	Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el peso final de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> al cabo de 45 días del Bioensayo de crecimiento. Análisis de varianza a dos vías (nivel inclusión contra tipo de alga).....	52
13	Valores de materia seca retenida (MSR%) después de una hora de inmersión en agua de mar de las dietas para el bioensayo de digestibilidad <i>in vivo</i>	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Composición de las dietas (g 100g ⁻¹) usadas para evaluar el crecimiento de <i>Litopenaeus vannamei</i>	26
2a	Composición de las dietas (g 100g ⁻¹) usadas para evaluar la digestibilidad <i>in vivo</i> de <i>Litopenaeus vannamei</i>	27
2b	Composición en g 100g ⁻¹ de las dietas para medir la digestibilidad de las macroalgas.....	28
3	Composición de la premezcla de vitaminas.....	28
4	Composición de la premezcla de minerales.....	29
5	Composición química proximal y de energía de los ingredientes utilizados en la fabricación de las dietas experimentales.....	40
6	Valores promedio de parámetros fisicoquímicos del agua de mar durante 45 días de cultivo en el sistema de cultivo.....	41
7	Composición química proximal y de energía de las dietas utilizadas en el experimento de crecimiento.....	43
8	Valores en los coeficientes de regresión (<i>b</i>) determinados por el análisis de covarianza.	46
9	Resultados zootécnicos del bioensayo de crecimiento con el camarón <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentados durante 45 días.....	51
10	Composición química proximal y de energía de las dietas utilizadas en el experimento de digestibilidad <i>in vivo</i>	54
11	Coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDa%) de la materia seca, la proteína, los carbohidratos y los lípidos de las dietas del bioensayo de digestibilidad <i>in vivo</i> en juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	56
12	Coeficientes de utilización digestiva aparente aparente (CUDa%) de la materia seca, la proteína, los carbohidratos y los lípidos de las harinas de kelp y sargazo en juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1 Composición química proximal, de energía y perfil de aminoácidos de <i>Macrocystis pyrifera</i> (kelp) y <i>Sargassum</i> spp. (sargazo) reportados para algas de México.....	83
2 Valores de correlación (<i>r</i>) con la prueba de Spearman para los parámetros zootécnicos de evaluación en el bioensayo de crecimiento.....	84
3 Cálculos para establecer diferencias significativas entre traslapes y elevaciones de nueve líneas de regresión por dieta, por medio de sus coeficientes de regresión (<i>b</i>).....	85
4A Estabilidad y contenido de alginatos teóricos de las dietas utilizadas en el experimento de crecimiento.....	86
4B Composición en óxido crómico y alginatos de las dietas utilizadas en el experimento de digestibilidad <i>in vivo</i>	86
5 Coeficientes de digestibilidad aparente (%) de materia seca, proteína, carbohidratos y lípidos de los alimentos para juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i>	87

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*.

RESUMEN

Las macroalgas sargazo gigante (*Macrocystis pyrifera*) y sargazo (*Sargassum* spp.) son recursos naturales con posibilidades de utilizarse como aditivos en alimentos balanceados para la camaronicultura. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* (kelp) y de *Sargassum* spp. (sargazo) en alimentos balanceados, sobre el crecimiento y la digestibilidad *in vivo* en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

Para la primera parte se elaboraron nueve dietas: una Control (sin inclusión de algas), cuatro con inclusión de harina de kelp (HK) al 1, 4, 7 y 10%, y cuatro con inclusión de harina de sargazo (HS) al 1, 4, 7 y 10%. Las dietas tuvieron 33% de proteína, 7% de lípidos y 17 kJ g⁻¹ de energía. El sistema de cultivo consistió en acuarios de 60 L, con alimentación de aire, agua filtrada y esterilizada, control de fotoperíodo y temperatura. Se utilizó una densidad de cultivo de 10 animales por acuario (1.1 ± 0.1 g peso inicial), con tres réplicas por cada tratamiento alimenticio. El bioensayo tuvo una duración de 45 días, y se realizaron biometrías al inicio, y posteriormente, cada 15 días.

La supervivencia durante el bioensayo fue superior al 86% con todas las dietas. Los pesos finales de los camarones variaron de 6.2 a 6.5 g con las dietas HK1%, HK10%, HS4% y HS10%, siendo mayores que el obtenido con el Control (5.2 g). Se encontró un efecto benéfico significativo del nivel de inclusión de las algas sobre el crecimiento ponderal de los organismos. El crecimiento relativo diario con las dietas HK10% y HS10% (12.2 y 12.3%) fue significativamente mayor al Control (9.5%). En términos de alimento consumido, la dieta HK7% fue inferior a la dieta HS10% (158 y 257 mg/camarón/día, respectivamente). La proteína ingerida presentó la misma tendencia que el alimento consumido. El tratamiento HK7% registró un factor de

conversión alimenticia de 1.6, y las dietas Control y HS10% lo aumentaron a 2.1. La eficiencia proteica de la dieta HK7% (1.9) fue más alta que la obtenida por la dieta HS10% (1.4).

En la segunda parte, se realizó un experimento para determinar el efecto de la inclusión de kelp o sargazo sobre la digestibilidad *in vivo* de los alimentos utilizados en el bioensayo de crecimiento, así como para determinar la digestibilidad de las propias algas. Para ello se fabricaron siete dietas: una Control y cuatro dietas con 4 y 10% de inclusión de kelp o sargazo (HK4%, HS4%, HK10% y HS10%). Adicionalmente, se evaluaron dos dietas en las que se incluyó harina de sargazo o kelp al 15% (HK15% y HS15%). Todas las dietas se evaluaron en juveniles de *Litopenaeus vannamei* (5 - 7 g) en un diseño de cuatro réplicas por dieta, realizándose recolectas de heces por sifoneo durante 21 días.

La digestibilidad de proteína de la dieta HK10% (73%) fue inferior a la de las dietas Control, HK4% y HS10% (en promedio 81%). La inclusión de kelp al 10% disminuyó la digestibilidad aparente de la materia seca (70 a 60%), la proteína (81 a 73%) y los lípidos (85 a 79%) con respecto a la dieta donde se incluyó kelp al 4%. No se detectaron diferencias en la digestibilidad de materia seca y nutrientes entre las dietas con sargazo (4 y 10%) y el Control. La digestibilidad de la harina de kelp es menor a la de sargazo en cuanto a materia seca (29 y 70%), proteína (34 y 74%), y carbohidratos (81 y 100%), mientras que en lípidos (79 y 81%) no se encontraron diferencias. Los resultados del presente trabajo demuestran que el nivel de inclusión de las harinas de kelp y sargazo en el alimento sí produce un efecto benéfico sobre el crecimiento del camarón, aunque este efecto no es tan claro en cuanto al aprovechamiento del alimento. La utilización de la harina de sargazo no afectó la digestibilidad aparente de los nutrimentos, en cambio, al pasar del 4 al 10% de inclusión de kelp, la digestibilidad de los alimentos disminuyó significativamente, por lo que no se recomienda el uso de esta alga a niveles altos de inclusión en el alimento.

USE OF *Macrocystis pyrifera* AND *Sargassum* spp. MEALS IN BALANCED FEEDS FOR THE SHRIMP *Litopenaeus vannamei*: EFFECTS ON GROWTH AND *in vivo* DIGESTIBILITY.

ABSTRACT

The seaweeds giant sargazo (*Macrocystis pyrifera*) and sargazo (*Sargassum* spp.) are natural resources with possibilities of being used as additives in balanced feeds for shrimp culture. The objective of the present work was to evaluate the effect of different dietary levels of *Macrocystis pyrifera* (kelp) and *Sargassum* spp. (sargazo) meals, on the growth and the *in vivo* digestibility in juveniles of *Litopenaeus vannamei*.

For the first part, nine diets were elaborated: a Control (without inclusion of marine algae), four containing 1, 4, 7 and 10% of kelp meal (HK), and four containing 1, 4, 7 and 10% of sargazo meal (HS). All diets were formulated to contain 33% protein, 7% lipids and 17 kJ g⁻¹ energy. The culture system consisted of 60-L tanks supplied with air-stones, and filtered and sterilized seawater. Photoperiod and temperature were controlled. Shrimp (1.1 ± 0.1 g initial mean weight) were stocked at a density of 10 organisms per tank, with three replicates per dietary treatment. A growth trial was conducted during 45 days. Shrimp were weighted at the beginning of the experiment, and every 15 days.

Survival during the feeding trial was higher than 86% with all the diets. The final weights of shrimp varied from 6.2 to 6.5 g with diets HK1%, HK10%, HS4% and HS10%, being greater than the obtained with the Control diet (5.2 g). A significant beneficial effect of the dietary level of marine algae was detected on shrimp growth. The daily relative growth with diets HK10% and HS10% (12.2 and 12.3%) was significantly higher than the Control (9.5%). Feed intake of diet HK7% was lower than that of diet HS10% (158 and 257 mg/shrimp/day, respectively). The protein intake presented the same pattern as the feed intake. Treatment HK7% registered a feed conversion ratio of 1.6, and the diets Control and HS10% increased it to 2.1. The

protein efficiency of diet HK7% (1.9) was higher than the one obtained with diet HS10% (1.4).

In the second part of the study, an experiment was conducted to determine the effect of the inclusion of kelp and sargazo meals on the *in vivo* digestibility of the feeds used in the growth trial, as well as to determine the digestibility of the marine algae. For this purpose, seven diets were tested: a Control diet and four diets containing 4 and 10% of kelp or sargazo meals (diets HK4%, HS4%, HK10% and HS10%). Additionally, two diets were formulated to contain 15% of sargazo or kelp meals (HK15% and HS15%). All the diets were evaluated in juvenile of *Litopenaeus vannamei* (5 - 7 g) with 4 replicates per treatment. Feces were collected by siphoning during 21 days.

Protein digestibility of diet HK10% (73%) was lower than that of diet Control, HK4%, and HS10% (81% in average). The inclusion of kelp at 10% in the diet diminished the digestibility of dry matter (70 to 60%), protein (81 to 73%), and lipids (85 to 79%) compared to the diet containing 4% of kelp meal. No significant differences in dry matter and nutrient digestibility were found between feeds containing sargazo (4 and 10%), and the Control.

The digestibility of kelp meal is lower than the one of sargazo meal, in terms of dry matter (29 and 70%), protein (34 and 74%), and carbohydrates (81 and 100%), whereas lipid digestibility was similar among diets (79 and 81%).

The results of the present study demonstrate that the dietary level of kelp and sargazo produces a beneficial effect on shrimp growth, although this effect is not so clear in the feed efficiency. The use of sargazo meal did not affect the apparent digestibility of the nutrients. In contrast, when increasing the inclusion level of kelp from 4 to 10% in the diet, the digestibility diminished significantly. For this reason, the use of kelp meal at high dietary levels in shrimp feeds is not recommended.

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación representa el costo más elevado en los cultivos semi-intensivos e intensivos de camarón, llegando a representar hasta el 50% de los gastos de operación de las granjas acuícolas (Martínez-Córdova *et al.*, 2003). Muchos de estos costos derivan de la fuente de proteína, proveniente de harinas de pescado, soya, calamar y cabeza de camarón, entre otros. Para que el cultivo de camarones sea rentable y sostenible es necesario el desarrollo de “alimentos compuestos” de alto valor nutrimental con ingredientes de bajo precio (Sudaryano *et al.*, 1995).

Los aditivos alimenticios son sustancias o mezclas que se adicionan intencionalmente a los alimentos para realizar una o varias funciones específicas (Carrillo *et al.*, 2000). Estas funciones son para: 1) preservar sus características nutricionales antes de alimentar (i.e. antioxidantes e inhibidores del crecimiento de hongos), 2) facilitar la dispersión de los ingredientes, en el peletizado o granulado de los alimentos (i.e. emulsificantes, estabilizadores y aglutinantes), 3) facilitar el crecimiento (i.e. promotores del crecimiento, los cuales incluyen antibióticos y hormonas), 4) facilitar la ingestión del alimento y la aceptación del producto por el consumidor (i.e. estimulantes de consumo y colorantes alimenticios), y 5) suplir los nutrientes esenciales en forma purificada (i.e. vitaminas, minerales, aminoácidos, colesterol y fosfolípidos) (Bello, 1995).

En México, uno de los recursos naturales con posibilidades de utilizarse como ingrediente o aditivo para alimentos balanceados son las harinas de *Macrocystis pyrifera* (sargazo gigante) (Linnaeus) C. Agardh y *Sargassum* spp. (sargazo). En la costa occidental de Baja California, durante el verano de 1986, Hernández-Carmona *et al.* (1991) determinaron una cobertura de mantos de *M. pyrifera* de 18,682 Km² y una biomasa cosechable de 97,804 toneladas métricas (TM). Las algas del género *Sargassum* son particularmente abundantes en el Golfo de California, en localidades como Bahía de La Paz, Bahía Concepción, y de la costa del municipio de Mulegé, Baja California Sur, hasta San Felipe, Baja California, se ha estimado una biomasa

potencial de 180,000 TM anuales (Hernández *et al.*, 1990; Casas-Valdez *et al.*, 1993; Pacheco *et al.*, 1998).

Las harinas de kelp y sargazo poseen una alta concentración de minerales (Mg, Ca, P, K, I, Na, Fe y Mn), vitaminas (ácido ascórbico, niacina, tiamina, retinol, colecalciferol y riboflavina), carbohidratos complejos o ficocoloides (alginatos, fucoidinas “polisacáridos sulfatados”, laminarán y manitol) (Rodríguez-Montesinos & Hernández-Carmona, 1991). El perfil de aminoácidos destaca por contener aminoácidos esenciales (lisina, fenilalanina, tirosina, treonina y triptófano) y no esenciales como ácido glutámico y ácido aspártico, así como ácidos grasos (linoleico y araquidónico) y muy bajo contenido de factores antinutricios como el ácido tánico (Manzano & Rosales, 1989).

La digestibilidad *in vivo* es uno de parámetros utilizados para medir el valor nutricional de los distintos insumos destinados a alimentación acuícola, debido a que no basta que la proteína u otro elemento se encuentre en altos porcentajes en el alimento (o en sus insumos) sino que debe ser digerible para que pueda ser asimilado y, por consecuencia, aprovechado por el organismo que lo ingiere (Brown *et al.*, 1989; Akiyama *et al.*, 1993). El conocimiento de la digestibilidad aparente de los alimentos balanceados para camarón tiene como objetivo la búsqueda del contenido nutrimental del alimento, 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.

La determinación de la digestibilidad *in vivo* es esencialmente el establecimiento de un balance apropiado entre los nutrientes que entran a partir de los alimentos y de los que salen a través de las heces. Hay dos métodos posibles: el método de recolección total consistente en la recolección cuantitativa de las heces emitidas que corresponden a uno o muchos alimentos, y el método con indicador que ha sido desarrollado para obviar los problemas de la recolección cuantitativa usando un marcador inerte indigerible; el marcador más frecuentemente usado es el óxido

crómico que es incorporado al alimento y luego analizado en él y en las heces (Edin, 1918).

Se conocen como alimentos amigables, aquellos que resultan en una adecuada respuesta productiva de los organismos en cultivo, con el menor impacto posible al medio ambiente (Chamberlain, 1995; Kureshy & Davis, 2002). Estos alimentos se caracterizan por contener los niveles de proteína mínimos necesarios para la especie y la fase de desarrollo en que se encuentra el organismo cultivado, así como las condiciones del cultivo. En la formulación de ellos, se utilizan ingredientes y aditivos alimenticios más digeribles, inmunoestimulantes y atractantes que estimulan un rápido consumo.

Las harinas de kelp y sargazo han demostrado una serie de bondades en la alimentación de organismos acuáticos como: atractabilidad, buen perfil de aminoácidos, presencia muy baja de factores antinutricios, efectos inmunoestimulantes, capacidad aglutinante y texturizante en el alimento, buen perfil de vitaminas y minerales, etc. Razones por las que se busca demostrar que su utilización provocará un valor agregado a las dietas como alimentos amigables con el ambiente y que incrementarán el crecimiento de los camarones disminuyendo los costos de producción en la camaronicultura.

2. ANTECEDENTES

En la nutrición de organismos acuáticos, el alga kelp ha sido utilizada fresca y en alimentos extruídos para el erizo de mar (*Loxechinus albus*) con buenos resultados en la formación de gónadas (Lawrence *et al.*, 1997). El kelp también ha sido utilizado en la fabricación de alimento para el abulón (*Haliotis* spp.) (Stuart & Brown, 1994), y como un alimento atractante en la misma especie, aunque en forma fresca (Viana *et al.*, 1994). En Japón se ha evaluado como aditivo en alimento para peces y se encontró una relación con la asimilación de la vitamina C (Nakagawa, 1997). Castro-González *et al.* (1991) evaluaron la composición química de la harina de kelp, los

factores antinutricionales y la digestibilidad *in vitro* e *in situ*, encontrando un porcentaje de proteína de 8.8% con un buen contenido de aminoácidos, presencia baja de taninos, un contenido alto del extracto libre de nitrógeno (46.2 - 46.6%) y de cenizas (36.6 - 34.2%). Su uso se recomienda para la alimentación como un complemento en la dieta de organismos acuáticos.

Cruz-Suárez *et al.* (2000a) evaluaron el efecto de la inclusión de diferentes niveles de harina de kelp sobre algunas propiedades químicas y funcionales de alimentos experimentales y comerciales para juveniles de *Litopenaeus vannamei*, así como el efecto sobre diferentes parámetros zootécnicos. Para ello, se realizaron varios estudios: dos bioensayos donde se evaluó el efecto de la inclusión de harinas de kelp chilena (0, 2, 4 y 8%) y mexicana (0, 2 y 4%), en alimentos experimentales con 35 y 30% de proteína. Los alimentos experimentales y comerciales fabricados con niveles de inclusión de 2 y 4%, aumentaron al doble el consumo del alimento y la producción de biomasa, especialmente cuando la proteína animal fue dominante (1.5/1). La digestibilidad aparente de la materia seca de los alimentos también se mejoró con estos niveles (2 y 4%) en un 9 y 14% en comparación con el Control y la digestibilidad aparente de la proteína aumentó en un 2.6 y 3.2% con los niveles mencionados con relación al Control. Dichos autores concluyeron que la harina de kelp puede ser incluida entre el 2 y 4% en alimentos peletizados para camarón, funcionando como attractante, aglutinante y texturizante, que permite una utilización más eficiente de los nutrientes dietarios, al asegurar una menor lixiviación y una mayor ingesta.

Rivera *et al.* (2002) evaluaron tres niveles de inclusión (10, 15 y 20%) de la harina de kelp en alimentos comerciales para juveniles de *L. vannamei*, en un bioensayo de crecimiento durante 25 días. El peso promedio final y la biomasa, fueron mayores en el tratamiento en el que se incluyó el 10% de la harina de kelp en comparación con el alimento Control. Además, la harina de kelp mostró un contenido de fucoidan entre 5.2 y 5.4%, una actividad vibriostática a niveles de inclusión de 0.1% y permitió

disminuir la lixiviación en el agua de los nutrimentos por una propiedad aglutinante en el alimento.

Casas-Valdez *et al.* (2002) realizaron un estudio sobre el potencial de sargazo en la nutrición de juveniles *L. vannamei*, y determinaron que la harina de sargazo es una buena fuente de carbohidratos ($38.9 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), de fibra ($5 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), de cenizas ($31 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) dentro de los cuales están sodio, potasio, magnesio y calcio, de vitaminas (A, C y E), de aminoácidos esenciales (lisina, fenilalanina, tirosina, treonina y triptófano), y de ácidos grasos esenciales como el araquidónico y alfa-linoléico ($19 \text{ y } 11 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). Reportan un valor de alginatos de 14.6%, de fucoidina 4.6% y ausencia de factores antinutricionales como saponinas, glucósidos cianogénicos, manitol y alcaloides, con una contribución baja de ácido tánico ($1.7 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$). Estos autores evaluaron dos niveles de inclusión en el alimento para camarón (2 y 4%), reportando para el tratamiento con 4% de sargazo, incrementos en la biomasa del camarón de 55%, un aumento en el consumo del alimento de 52% y una tasa de crecimiento superior del 81%, en comparación con el tratamiento Control y con el tratamiento 2% sargazo.

3. JUSTIFICACIÓN

Las tendencias actuales en la formulación y fabricación de alimentos es la disminución de costos por kilo de alimento producido, por lo que es necesario buscar ingredientes no convencionales, de bajo costo y que redunden en beneficios de los precios del alimento balanceado.

Dentro de la producción acuícola del país la camaronicultura es la que ha presentado el más fuerte desarrollo, donde la eco-región del Noroeste representa más del 85% de toda la producción de la acuicultura del camarón en México, con una producción total de aproximadamente 78,000 toneladas, la cual representa el 65% de la producción nacional estimada para el 2004 en 120,000 ton, SAGARPA (2003).

Desde un contexto regional, hay una creciente demanda de alimentos para *Litopenaeus vannamei* ya que han surgido nuevos proyectos de granjas camaroneras en la región noroeste, resultando de vital importancia promover el uso de productos regionales y diversificar el abanico de oportunidades de insumos abundantes, económicamente rentables de explotar, con larga vida de anaquel y que puedan incorporarse en forma de harinas en los alimentos. Mediante los resultados de este trabajo se pretende contribuir al aprovechamiento de los recursos potenciales disponibles y proporcionar información útil sobre la utilización de las harinas de kelp y sargazo como aditivos alimentarios para la fabricación de alimentos balanceados para *L. vannamei*, en la región noroeste de México.

No obstante, las harinas de kelp y sargazo contienen valores en proteína de 5-12%, en cenizas de 21-40%, en alginatos de 14-25% y un contenido de lípidos de 0.8-1.2%. Factores que deben de tomarse en cuenta para recomendar su uso a niveles de inclusión adecuados que no afecten el valor nutrimental de los alimentos y que permitan un buen aprovechamiento de los mismos.

En trabajos anteriores, ya se evaluó la inclusión de harinas de kelp (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a) y sargazo (Casas-Valdez *et al.*, 2002) a bajos niveles de inclusión (2 y 4%) en alimentos para juveniles de *L. vannamei*, y se han obtenido buenos resultados en los parámetros zootécnicos (crecimiento y utilización del alimento), sin embargo, se desconoce el efecto que pueda tener el uso de éstas algas a mayores niveles de inclusión, así como su digestibilidad *in vivo*, mismo que se plantea estudiar en el presente trabajo.

4. HIPÓTESIS

1. Niveles de inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y de *Sargassum* spp., superiores al 4% en alimentos balanceados para juveniles de *Litopenaeus vannamei* producirán un incremento significativo en el alimento consumido, en la tasa de crecimiento, en la eficiencia proteica y una mejora en el factor de conversión alimenticia.

2. La digestibilidad aparente de la materia seca y nutrimentos (carbohidratos, proteínas y lípidos) de las harinas de *M. pyrifera* y de *Sargassum* spp., en los alimentos balanceados para juveniles de *L. vannamei*, se incrementará en relación con el nivel de inclusión, sin que se tengan efectos negativos por una disminución de la proteína o por un aporte mayor de carbohidratos derivado de las algas.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y de *Sargassum* spp., en el alimento, sobre el crecimiento y la digestibilidad *in vivo* en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

5.2. Objetivos particulares:

- 1) Evaluar el efecto de la utilización de las harinas de *M. pyrifera* y *Sargassum* spp., a niveles de inclusión de 1, 4, 7 y 10% sobre el crecimiento, la supervivencia y la utilización del alimento en juveniles de *L. vannamei*.
- 2) Determinar el efecto de la utilización de las harinas de *M. pyrifera* y *Sargassum* spp., a diferentes niveles de inclusión sobre la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, proteínas, carbohidratos y lípidos en juveniles de *L. vannamei*.
- 3) Medir la digestibilidad *in vivo* de materia seca, proteínas, lípidos y carbohidratos de las harinas de *M. pyrifera* y de *Sargassum* spp., en juveniles de *L. vannamei*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Macroalgas del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) y en los Laboratorios de Nutrición Acuícola del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., (CIBNOR), ubicados en la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México.

6.1. Materias primas e ingredientes

6.1.1. Cosecha del alga sargazo

El alga sargazo se recolectó en la localidad de San Juan de La Costa, a 30 Km de la ciudad de La Paz, B.C.S., México. La recolecta se llevó a cabo en la zona intermareal y posteriormente, fueron esparcidas sobre una superficie de cemento libre de polvo para secarse a temperatura ambiente, por dos días consecutivos, con una variación de 22 a 37 °C.

Las harinas de sardina, pasta de soya y trigo, así como las vitaminas, minerales, el cloruro de colina, el óxido crómico y la celulosa utilizada para fabricar los alimentos experimentales fueron adquiridos con diversos proveedores (Tablas 1, 3a y 5). Las harinas antes mencionadas se pulverizaron en un molino pulverizador PULVEX Modelo 200 (Molinos PULVEX S.A. de C.V., México, D. F.) y se tamizaron a un tamaño de 250 µm, guardándose en cubetas de plástico a temperatura ambiente hasta su uso. Las premezclas de vitaminas y minerales se elaboraron en laboratorio de acuerdo a la composición recomendada por Davis & Arnold (2000) que cubre los requerimientos en vitaminas y minerales para juveniles de *L. vannamei*.

El alga de sargazo fue molida en un molino de martillos, se pulverizó con el mismo procedimiento que las demás harinas en el molino pulverizador, el producto obtenido (harina de sargazo) se tamizó a 250 µm. El alga kelp marca “KELPROPAC” fue proporcionada en forma de harina por la empresa Productos del Pacífico, S.A. de C.V. (Ensenada, B. C., México), se tamizó a 250 µm.

6.2. Formulación, diseño experimental y fabricación de alimentos

Basándose en la composición química proximal y de energía de los ingredientes, se formularon dietas compuestas para camarón con la ayuda del paquete MIXIT-WIN^{MR} (Agricultural Software Consultants Inc., San Diego, CA, USA), tomando como base una dieta Control (Tabla 1) con 33% de proteína y 7% de lípidos (Gutiérrez-Leyva, 2003).

Para la primera etapa (experimento de crecimiento) se formularon nueve dietas: una control (sin inclusión de algas), cuatro con inclusión de 1, 4, 7 y 10% de harinas de kelp (dietas HK1%, HK4%, HK7% y HK10%) y cuatro con inclusión de 1, 4, 7 y 10% de harinas de sargazo (dietas HS1%, HS4%, HS7% y HS10%). Para ello se reemplazó parcialmente la harina de trigo y se aumentó gradualmente la pasta de soya para ajustar a 100%, y que las dietas fueran isoprotéicas (Tabla 1).

Para la segunda etapa (experimento de digestibilidad *in vivo*), se formularon siete dietas: una Control (misma dieta del experimento 1, al que se le adicionó 1% de Cr₂O₃ como marcador inerte), dos con inclusión de kelp al 4 y 10% (dietas HK4% y HK10%) y dos con inclusión de sargazo al 4 y 10% (dietas HS4% y HS10%), respectivamente (Tabla 2a). Adicionalmente, se formularon dos dietas en las que se incluyó 84% de la dieta Control o 15% de harina de kelp (HK15%) y 15% de harina de sargazo (HS15%), a fin de medir la digestibilidad *in vivo* de los nutrientes (materia seca, proteína, carbohidratos y lípidos) de estas algas (Tabla 2).

Tabla 1. Composición de las dietas (g 100g⁻¹) utilizadas para evaluar el crecimiento de *Litopenaeus vannamei*.

Ingrediente	CONTROL	HK 1%	HK 4%	HK 7%	HK 10%	HS 1%	HS 4%	HS 7%	HS 10%
Harina integral trigo ^{1-A}	46.1	45.0	41.9	38.7	35.6	44.8	41.0	37.2	33.4
Harina de pescado ^{2-A}	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0
Pasta de soya ^{3-A}	19.2	19.2	19.4	19.5	19.7	19.4	20.2	21.0	21.8
Aceite de sardina ^{4-A}	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Lecitina de soya ^{5-B}	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Ácido algínico ^{6-C}	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Harina de kelp ^{7-D}	0.0	1.0	4.0	7.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Harina de sargazo ^{8-E}	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	4.0	7.0	10.0
Premezcla de vitaminas ⁹	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Fosfato dibásico de sodio ^{10-F}	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Premezcla de minerales ¹¹	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Cloruro de colina 62% aa ^{12-G}	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamina C, 35% aa ^{13-H}	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Antioxidante BHT ^{14-I}	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004

¹Harina integral de trigo HIT0312-1, ²Harina de pescado HP0312-1, ³Pasta de soya PS0312-1, ⁴Aceite de sardina AS0406, ⁵Lecitina de soya LS0303, ⁶Ácido algínico Sigma A-0503-1, ⁷Harina de kelp HK0410-1, ⁸Harina de sargazo HS0410-1, ⁹Premezcla de vitaminas VITCRU0201 (Tabla 3), ¹⁰Fosfato dibásico de sodio S-0876, ¹¹Premezcla de minerales MINCRUS0201 (Tabla 4), ¹²Cloruro de colina (62% agente activo), ¹³Vitamina C (35% agente activo-Stay-C, Roche)¹³ y ¹⁴Butil-Hidroxi-Tolueno. ^APromotora Industrial Acuasistemas, S.A., La Paz, B.C.S., México. ^BODONAJI, Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales, S.A. de C.V., México, D.F. ^CALDRICH # cat. 180947-500G. ^D"KELPROPAC" Productos del Pacífico, S.A. de C.V., Ensenada, B.C., México. ^ECICIMAR-IPN Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas Lote. 1. Recolectada 05-20-06 Localidad: San Juan de La Costa, Baja California Sur, México. ^FSIGMA # cat. S-0876. ^{G,H}Roche, D.F., México. ^IButylated hydroxytolueno, ICN # cat. 101162.

Tabla 2a. Composición de las dietas (g 100g⁻¹) usadas para evaluar la digestibilidad *in vivo* de *Litopenaeus vannamei*.

Ingrediente	CONTROL	HK 4%	HK 10%	HS 4%	HS 10%	HK 15%	HS 15%
Harina integral trigo ^{1-A}	45.6	41.4	35.2	40.6	33.1	38.7	38.7
Harina de pescado ^{2-A}	22.8	22.8	22.8	22.8	22.8	19.3	19.3
Pasta de soya ^{3-A}	19.0	19.2	19.5	20.0	21.6	16.1	16.1
Aceite de sardina ^{4-A}	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	3.4	3.4
Lecitina de soya ^{5-B}	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.7	1.7
Ácido algínico ^{6-C}	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.7	1.7
Harina de kelp ^{7-D}	0.0	4.0	10.0	0.0	0.0	15.0	0.0
Harina de sargazo ^{8-E}	0.0	0.0	0.0	4.0	10.0	0.0	15.0
Premezcla de vitaminas ⁹	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.5	1.5
Fosfato dibásico de sodio ^{10-F}	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.0	1.0
Premezcla de minerales ¹¹	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4
Cloruro de colina 62% aa ^{12-G}	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamina C, 35% aa ^{13-H}	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08
Antioxidante BHT ^{14-I}	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003
Óxido crómico ^{15-J}	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

¹Harina integral de trigo HIT0312-1, ²Harina de pescado HP0312-1, ³Pasta de soya PS0312-1, ⁴Aceite de sardina AS0406, ⁵Lecitina de soya LS0303, ⁶Ácido algínico Sigma A-0503-1, ⁷Harina de kelp HK0410-1, ⁸Harina de sargazo HS0410-1, ⁹Premezcla de vitaminas VITCRU0201 (Tabla 2), ¹⁰Fosfato dibásico de sodio S-0876, ¹¹Premezcla de minerales MINCRUS0201 (Tabla 4), ¹²Cloruro de colina (62% agente activo), ¹³Vitamina C 35% agente activo (Stay-C, Roche)¹³, ¹⁴Butil-Hidrox-Tolueno y ¹⁵Óxido crómico. Las letras A, B, C, D, E, F, G, H, I y J señalan el origen de los ingredientes y son las que se describen en la Tabla 1.

Tabla 2b. Composición en g 100 g⁻¹ de las dietas para medir la digestibilidad de las macroalgas.

	HK 15%	HS 15%
Dieta Control ¹	84	84
Harina de kelp	15	--
Harina de sargazo	--	15
Óxido crómico	1	1

¹Dieta Control que se muestra en la Tabla 3a.

Las dietas se elaboraron en la planta de alimentos experimentales del CIBNOR, siguiendo el método descrito por Civera & Guillaume (1989). Las harinas de sardina, de pasta de soya y de trigo integral se mezclaron en una mezcladora Kitchen Aid^{MR} (Modelo K5SS, Michigan, USA) de 5 L, por espacio de 15 minutos. Posteriormente, se le agregaron las premezclas de vitaminas y minerales (Tablas 3 y 4) y el cloruro de colina, mezclándose por 15 minutos más. Después, se le incorporó una emulsión de aceite de pescado y lecitina, y por último, se adicionó agua caliente (90 °C) a la mezcla sólida (aprox. 35% del peso) hasta formarse una masa consistente.

Tabla 3. Composición de la premezcla de vitaminas.

Vitaminas	Número de Catálogo	g 100g ⁻¹ de premezcla
Vitamina A acetato (retinol)	160079 ^a	0.01
Vitamina D ₃ (coleciferol)	160107 ^a	3.72
Vitamina E (tocoferol)	100555 ^a	7.93
Vitamina K ₃ (menadiona)	102259 ^a	0.40
Tiamina (B ₁) mononitrato	T-4625 ^b	2.98
Riboflavina (B ₂)	R-4500 ^a	1.98
Piridoxina (B ₆)	102777 ^a	0.99
Ácido D-pantoténico	101228 ^a	1.98
Niacina (Ác. Nicotínico)	102446 ^a	5.95
D-Biotina	B-4501 ^b	0.02
Inositol	I-5125 ^b	9.92
Ácido fólico	101725 ^a	0.40
Cianocobalamina (B ₁₂)	103271 ^a	0.002
Celulosa (vehículo)	191499 ^a	19.84
Total		100.0

^aICN Biomedicals Inc. Ohio. USA. ^bSigma Co. St. Louis, USA.

Tabla 4. Composición de la premezcla de minerales.

Minerales	Número de catálogo SIGMA ^a	g 500g ⁻¹ de premezcla
Cloruro de cobalto	C-2644	0.020
Sulfato cúprico pentahidratado	C-6917	1.250
Sulfato ferroso	F-7002	20.00
Sulfato de magnesio heptahidratado	M-9697	141.990
Sulfato de manganeso monohidratado	M-3634	3.250
Yoduro de potasio	P-4286	0.335
Selenito de sodio	S-1382	0.050
Sulfato de zinc heptahidratado	Z-0501	65.965
Celulosa (vehículo)	C-8002	267.140
Total		500.0 g

^aSigma Co. St. Louis, USA.

6.3. Análisis químicos proximales y de energía de los alimentos

Los análisis químicos proximales y de energía de los ingredientes y de las dietas se realizaron por triplicado. Se determinaron humedad (A.O.A.C., 1995, No. 930.15), proteína (A.O.A.C., 1995, No. 976.05), extracto etéreo (A.O.A.C., 1995, No. 931.20), fibra cruda (A.O.A.C., 1995, No. 920.39) y cenizas (A.O.A.C., 1995, No. 942.05), así como el extracto libre de nitrógeno por diferencia a 100%.

6.4. Estabilidad de los alimentos en el agua

A las dietas usadas en los bioensayos se les determinó el porcentaje de materia seca retenida según el método de Obaldo *et al.* (2002). Para esto, se pesaron dos gramos de alimento, se colocaron en un matraz de 250 ml con 200 ml de agua marina a 40 unidades prácticas de salinidad (UPS). Después de 1 h de inmersión a 27 °C, con agitación constante a 100 r.p.m. en un agitador horizontal (Lab-line®, Melrose Park, Illinois, USA) el contenido del matraz se filtró a través de papel filtro Whatman No. 3. El papel filtro con el alimento residual se secó en una estufa con flujo de aire a 105 °C por 24 h. Para calcular la estabilidad del alimento se usó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de materia seca retenida} = \frac{\text{Peso seco del alimento residual}}{\text{Peso seco del alimento inicial}} \times 100$$

6.5. Sistema de cultivo

El sistema de cultivo utilizado para llevar a cabo los bioensayos de crecimiento y digestibilidad *in vivo*, consistió en 48 acuarios de fibra de vidrio con una capacidad de 60 L con medidas: 34 x 55 x 38 cm de ancho, alto y largo, respectivamente (Fig. 1).



Figura 1. Sistema de cultivo utilizado en los bioensayos de crecimiento y digestibilidad *in vivo*.

El sistema de alimentación de agua de mar consiste de una toma de agua ubicada a 300 m de la orilla del mar, que por medio de una bomba de 15 HP Modelo S2KM-S (Jacuzzi Cantar Pool Products. Toronto, Canadá) sube el agua a una cisterna externa con capacidad de 240 m³. De la cisterna se bombea el agua, pasando por un sistema de filtros de arena de 70 micras (Cristal-FLO, Modelo T-240BP-1, Sta. Rite Industries, Inc., Waterford, WIS, USA) hacia dos tanques con capacidad de 5,000 litros cada uno, ubicados a un costado del laboratorio. De aquí, el agua es enviada con una bomba de 1½ HP y un hidroneumático al interior del laboratorio de Nutrición Experimental, pasando por un sistema de filtros en serie de (50 y 10 µm) y por un filtro UV (Life Gard QL 25, Aquatic Ecosystems Inc. Apopka, FLA, USA). Cada

acuario estuvo equipado con un sistema de drenaje para poder tener un flujo de agua continuo. Un soplador de 5 HP (Modelo LR395, Aquatic Ecosystems Inc. Apopka, FLA, USA) permite airear el agua con la ayuda de mangueras de aireación conectadas a un exhaustor externo en cada acuario. Los acuarios se cubrieron con malla tipo mosquitera para evitar la fuga de organismos. La temperatura del agua en los acuarios fue controlada por calentadores sumergibles de 150 Watts (Rena Cal Excel, Aquarium Pharmaceuticals Inc. Chalfont, PA, USA) con una precisión de ± 0.5 °C. La iluminación del sistema experimental se hizo con focos de 60 Watts controlados por un timer para mantener un fotoperíodo de 12 h luz (06:00 a 18:00 hrs) y 12 h oscuridad (18:00 a 06:00 hrs) constante, a lo largo de los experimentos (crecimiento y digestibilidad *in vivo*).

6.6. Experimento 1. Efecto de la inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp., en el alimento sobre el crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

6.6.1. Organismos experimentales

Los juveniles de *L. vannamei* fueron obtenidos de la empresa Acuicultores de la Península, S. A. de C. V. (APSA), La Paz, B.C.S. Los organismos fueron aclimatados en el laboratorio de Nutrición Experimental dentro de tanques de plástico con capacidad de 1,500 L, a una temperatura de 27 ± 1 °C, salinidad de 37 (UPS) y un fotoperíodo 12 h luz: 12 h oscuridad. Los camarones se alimentaron dos veces al día (9:00 y 17:00 hrs) con un peletizado comercial (Malta Cleyton) para camarón, con 40% de proteína durante una semana.

6.6.2. Diseño experimental y condiciones de cultivo

Las dietas utilizadas en este bioensayo son las que se mostraron en la Tabla 1. Las condiciones de cultivo fueron: temperatura: 27 ± 1 °C, salinidad: 37 ± 1 UPS; oxígeno disuelto: >5 mg L⁻¹; alimentación: a saciedad aparente; duración: 45 días; recambio

de agua/día: 80%; fotoperíodo controlado: 12 h luz: 12 h oscuridad (fotofase 06:00 – 18:00 hrs.). Se utilizó una densidad de cultivo de 10 animales por tanque, con tres réplicas por cada tratamiento alimenticio. Durante el bioensayo se realizaron cuatro biometrías a los organismos, al inicio y cada 15 días. Todos los organismos fueron pesados individualmente en una balanza AE QT-200 con precisión de 0.01 g, eliminando el exceso de agua del cuerpo del camarón por medio de papel absorbente (Fig. 2).

El primer día de la evaluación, se suministraron las dietas experimentales a razón del 10% de la biomasa en cada tanque, y posteriormente, fue ajustada diariamente en función del alimento consumido. Se midió, diariamente, la temperatura y el oxígeno disuelto con un oxímetro portátil y la salinidad, por medio de un refractómetro portátil (VISTA A336 ATC). Semanalmente, se midió la concentración de amonio, nitritos y nitratos, utilizando los métodos de Bendschneider & Robinson (1952), de Morris & Riley (1963) y de Solórzano (1969), respectivamente. A lo largo del experimento, se estimó, diariamente, la cantidad de alimento aparentemente consumido y se eliminaron por sifoneo las heces, las mudas y el alimento no consumido.

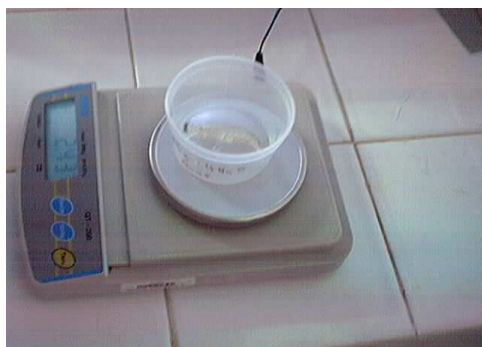


Figura 2. Biometrías quincenales de los organismos durante el bioensayo de crecimiento con juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

6.6.3. Parámetros zootécnicos de evaluación

Se evaluó quincenalmente, el crecimiento en peso, el crecimiento relativo diario, la supervivencia, el alimento aparentemente consumido, el factor de conversión alimenticia y la tasa de eficiencia proteica mediante el uso de las siguientes fórmulas:

$$\text{Crecimiento relativo diario} \quad \text{CRD} = \frac{\text{Pf (g)} - \text{Pi (g)}}{t \text{ (Pi)}} \times 100$$

Donde: Pf es el peso final del organismo (g), Pi es el peso inicial del organismo (g) y t es el tiempo en días.

$$\text{Supervivencia} \quad S = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

Donde: Nf es el número final de organismos y Ni es el número inicial de organismos.

$$\text{Factor de conversión alimenticia} \quad \text{FCA} = \frac{\text{Alimento aparentemente consumido (g)}}{\text{Incremento en peso corregido (g)}^*}$$

$$\text{*Incremento en peso corregido} \quad \text{IPC} = B_f + \frac{1}{2} (P_{pf} + P_{pi}) (N_m) - B_i$$

Este factor corrige el peso en función de la mortalidad, de acuerdo con Kitabayashi et al. (1971). Donde: Bf es la biomasa final, Bi es la biomasa inicial, Ppf es el peso promedio final, Ppi es el peso promedio inicial y Nm el número de muertos.

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

6.6.4. Análisis estadísticos

La normalidad y homogeneidad de varianzas se verificó utilizando la prueba de Lilliefors y la prueba de Bartlett (Sokal & Rohlf, 1995). Las diferencias entre las medias de las dietas fueron determinadas con un análisis de varianza de una vía, se llevó a cabo una comparación múltiple de medias de Tukey o en su caso la prueba de Nemenyi (para datos no paramétricos). Los resultados que se presentaron en porcentajes (supervivencia, tasa de crecimiento y materia seca retenida) fueron transformados con la función $\sqrt{\text{Arcoseno } (\% \text{ "variable"} / 100)^{1/2}}$ (Sokal & Rohlf, 1995).

Se aplicó un análisis de varianza de dos vías a los datos de peso final, con los factores (nivel de inclusión y tipo de alga). Se consideraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos cuando $P < 0.05$. Se aplicó un análisis de covarianza a las líneas de regresión de las curvas de crecimiento, para determinar posibles significancias en los traslapes y en las pendientes de los coeficientes de regresión β , de acuerdo a las ecuaciones propuestas por Zar (1984). Por último, se aplicó un análisis de correlación de Spearman a los datos de los parámetros zootécnicos con el fin de comprobar posibles diferencias en los coeficientes de r (+ ó -). Estos análisis se realizaron utilizando el software Statistica Versión 6.0 (StatSoft®, Tulsa, OA, USA, 1998).

6.7. Experimento 2. Efecto de la inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp., en el alimento sobre la digestibilidad *in vivo* en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

6.7.1. Organismos experimentales

Un lote de 1,800 juveniles de *L. vannamei* fue obtenido de la empresa APSA, La Paz, B.C.S., México. Se trasladaron al laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR, donde fueron aclimatados y alimentados, de acuerdo a los criterios que se utilizaron en el experimento de crecimiento (Sección 6.5.1).

6.7.2. Diseño experimental y condiciones de cultivo

Los primeros siete días del experimento fueron de aclimatación a las dietas experimentales, en los cuales la rutina diaria empezó con la limpieza de los acuarios y se suministró el alimento correspondiente al 10% de la biomasa de los camarones. Los juveniles de *L. vannamei* se pesaron individualmente y se seleccionaron organismos de entre 5 y 7 g, los cuales se distribuyeron al azar en cada uno de los acuarios, a razón de ocho organismos por acuario. Las dietas utilizadas en este bioensayo son las que se mostraron en la Tabla 2a. Cada una de las dietas

experimentales fue distribuida al azar dentro del sistema con los 48 acuarios (siete acuarios para cada dieta). El experimento tuvo una duración de 21 días, en los que diariamente se monitorearon los parámetros físico-químicos en las mismas condiciones descritas en la sección 6.5.2.

La recolecta de materia fecal (heces) se llevó a cabo, después de una hora de la primera alimentación, mediante sifoneo con una manguera de plástico con un diámetro de 6 mm. Se depositaron en un recipiente de plástico de 1 L, se enjuagaron con agua destilada dos veces, se escurrieron en el mismo recipiente y con una espátula se depositaron en tubos de plástico sumergidos en un baño a 4 °C. Después de esta primera recolecta, se volvió a proporcionar alimento. Después de una hora, se procedió a una segunda recolecta. Las heces recolectadas diariamente durante el experimento se juntaron en cuatro muestras por cada dieta con el fin de realizar análisis químicos por triplicado de cada una de las muestras.

6.7.3. Análisis químicos del material fecal y de los alimentos

El material fecal y las dietas experimentales se analizaron para determinar su composición química de proteína cruda (N x 6.25; A.O.A.C., 1995, No. 976.05), carbohidratos por el método de antrona (Dreywood, 1946), óxido crómico (Furukawa & Tsukahara, 1966) y lípidos totales (Folch-Lees & Sloane-Stanley, 1957), según los métodos descritos a continuación.

6.7.3.1. Carbohidratos

Se pesaron 0.004 g del reactivo de antrona (SIGMA A-1631) por cada réplica a analizar (12 para cada dieta) en una balanza con precisión ± 0.0001 , el reactivo pesado, se diluyó a razón de 10 ml de ácido sulfúrico concentrado por cada 0.020 g de reactivo, el cual se denominó como “reactivo de antrona”.

Se preparó una curva de calibración con una solución estándar de 1.5 ul/ml de glucosa. Para realizar la curva, se preparó una serie de diluciones de (15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 y 150 μ l/ml) y se completó el volumen con agua destilada.

Posteriormente, a cada tubo, se le añadieron 2 ml de la solución “reactivo antrona” a cada una de las diluciones, se agitaron en un vortex, se taparon y se sumergieron en un baño de hielo, se retiraron y se calentaron los tubos a 80 °C durante 15 min. Se enfriaron en hielo y se leyó la absorbancia contra un blanco de agua destilada a 630 nm en un espectrofotómetro (esta parte fue señalada como procedimiento A).

Se pesaron 100 mg de material fecal por triplicado (12 muestras por cada dieta), se colocaron en tubos con tapón rosca, se les agregaron 3 ml HCl 2N, se agitaron en un vortex, se calentaron a 100 °C durante 60 min., se enfriaron en un baño de hielo a 4 °C, después los tubos se centrifugaron a 2,000 r.p.m. por 5 min a 27 °C en una centrifuga (Beckman Instruments, USA), y se depositó el sobrenadante de cada tubo en otro tubo de ensaye etiquetado. Se preparó una serie de tubos con tapón rosca (12 para cada dieta) a los que se agregaron 20 µl del sobrenadante anterior, se vertió a cada tubo agua destilada hasta un volumen de 1 ml, y se repitió el procedimiento A para cada tubo.

6.7.3.2. Lípidos totales

Para obtener la cantidad de lípidos totales, se tomaron 100 mg de muestra liofilizada de material fecal o alimento finamente molido (< 500 micras). Se agregó 6.3 ml de la mezcla metanol:cloroformo:agua (2:1:0.8; v:v:v) como primera solución extractora, se centrifugó a 2,500 r.p.m. por 10 min. a 27 °C en una centrífuga (Beckman Instruments USA) y el residuo se sometió a una doble extracción con 5 ml de metanol:cloroformo (2 y 3 ml, respectivamente). Por centrifugación, se separó la mezcla cloroformo: lípidos, y la fracción metanol: agua: lípidos residuales se sometió a un doble lavado con cloroformo (2 y 3 ml). La mezcla cloroformo: lípidos se sometió a un proceso de evaporación en un microevaporador rotatorio (VV-micro Heidolph, Alemania) a un punto de ebullición de 64 °C, los lípidos residuales se recuperaron utilizando 1 ml de cloroformo para ser vertidos en viales de 1 ml. 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.

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

6.7.3.3. Óxido crómico

Para medir el óxido crómico, se colocaron 50 mg de alimento o material fecal finamente molidos (< 500 micras) en tubos de digestión de 100 ml y se adicionaron 5 ml de HNO₃, a cada uno. Los tubos se colocaron en un digestor AIM 500 (Scientific Pty Ltd., Australia, CA) a una temperatura de 120 °C por 90 min, el término de la reacción fue indicado por un color verdoso claro de la solución. Los tubos se dejaron enfriar por 25 minutos. Una vez fría la solución, se agregaron lentamente, 3 ml de ácido perclórico a cada tubo y se sometió a un proceso de digestión, a una temperatura de 203 °C por 120 min, hasta que la solución viró de verde a amarillo limón. La confirmación del final de la reacción se observó por un anillo rojo que se forma en la superficie de la solución, una vez fría. La solución permaneció en los tubos de digestión donde después se aforó a 50 ml con agua destilada, posteriormente, se tomó una muestra para leer su absorbancia a 350 nm en un espectrofotómetro. Las fórmulas utilizadas para el cálculo del valor de óxido crómico fueron las siguientes:

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

Donde: X = cantidad de óxido de crómico presente en la muestra y Y = absorbancia. 0.0032 y 0.2089 son una constante

% de óxido crómico = $100 * (X/A)$ según Furukawa y Tsukahara (1966).

Donde A = peso de la muestra

6.7.4. Criterios de evaluación

Se estimaron los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca (CDA_{MS}), proteínas (CDA_P), lípidos (CDA_L) y carbohidratos (CDA_C) de los alimentos según las siguientes fórmulas propuestas por Cho & Slinger (1979):

Para la digestibilidad aparente de materia seca:

$$\% \text{CDA}_{\text{MS}} = 100 - 100 \times (\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en dieta} / \% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces}).$$

Para los nutrimentos de los alimentos (proteínas, carbohidratos y lípidos):

$$\% \text{Digestibilidad aparente} = 100 - [(\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en dieta} / \% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en dieta} \times \% \text{nutrimento en heces} / \% \text{nutrimento en dieta}) \times 100]$$

Los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca y de los nutrimentos (proteínas, lípidos y carbohidratos) denominados: CDAI_{MS}, CDAI_P, CDAI_L y CDAI_C, respectivamente, y de los ingredientes: harinas de kelp y sargazo, fueron calculados de acuerdo a las siguientes fórmulas propuestas por Ezquerro-Brauer *et al.* (1997):

$$\text{CDAI}_{\text{MS}} (\%) = [(100 \times \% \text{CDA}_{\text{MS}} \text{Alimento}) - (85 \times \% \text{CDA}_{\text{MS}} \text{Alimento Control}) / 15] \\ \text{CDAI}_{\text{nutrimento}} (\%) = [(100 \times \% \text{CDA}_{\text{nutrimento}} \text{Alimento Prueba}) - (85 \times \% \text{CDA}_{\text{nutrimento}} \text{Alimento Control}) / 15]$$

Donde: nutrimento= es el nutrimento en cuestión a analizar (proteínas, carbohidratos o lípidos).

Para calcular la energía digestible (ED), proteína digestible (PD) y la relación PD/ED se aplicaron las fórmulas descritas por Cruz-Suárez *et al.* (2000b).

$$\text{ED} = [(17 \times \text{carbohidratos} \times \text{CDA}_{\text{C}} / 100) + (37.7 \times \text{lípidos} \times \text{CDA}_{\text{L}} / 100) + (16.7 \times \text{proteínas} \times \text{CDA}_{\text{P}} / 100)]$$

$$\text{PD} / \text{ED} = [\text{proteína} \times \text{CDA}_{\text{P}} / \text{ED}]$$

Los valores energéticos de los nutrimentos son: 16.7 kJ g⁻¹ para proteínas, 37.7 kJ g⁻¹ para lípidos y 17 kJ g⁻¹ para carbohidratos según reporta Tacon (1989).

6.7.5. Análisis estadísticos

La normalidad y homogeneidad de varianzas se verificó utilizando la prueba de Lilliefors y la prueba de Bartlett (Sokal & Rohlf, 1995). Se llevó a cabo una comparación múltiple con la prueba de Nemenyi (datos no paramétricos). Los resultados de los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA %) fueron transformados con la función $\sqrt{\text{Arcoseno } (\% \text{ digestibilidad aparente}/100)^{1/2}}$ (Sokal & Rohlf, 1995). Se consideraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos cuando $P < 0.05$. Estos análisis se realizaron con el software Statistica Versión 6.0 (StatSoft®, Tulsa, OA, USA, 1998).

7. RESULTADOS

7.1. Composición química proximal y de energía de los ingredientes

La composición química proximal y de energía de los ingredientes utilizados en la fabricación de los alimentos se presenta en la Tabla 5. Lo más relevante son los valores proteicos para la harina de sardina y pasta de soya, con 68.4 y 50%. Los valores más altos de cenizas se registraron en las harinas de sargazo (39.8%) y de kelp (21.3%). La harina de trigo aportó, principalmente, carbohidratos (E.L.N.) seguidos en importancia por las harinas de kelp y sargazo.

La composición química proximal, de energía y perfil de aminoácidos de *Macrocystis pyrifera* (kelp) y *Sargassum* spp., (sargazo) reportados para algas de México se presentan en el Anexo 1. En general la composición química es variable debido a la zona y a la temporada de cosecha de las algas (Casas-Valdez *et al.*, 2002). El perfil de aminoácidos revela que la mayoría de los aminoácidos esenciales para el camarón están presentes en las algas a excepción del triptofano (Tacon, 1989).

Tabla 5. Composición química proximal y de energía de los ingredientes utilizados en la fabricación de las dietas experimentales.

Ingrediente	Humedad	Proteína cruda	Extracto etéreo	Cenizas	Fibra Cruda	E.L.N.	Energía Kcal g ⁻¹
Harina integral trigo ^{1-A}	10.8	13.9	0.5	0.8	0.2	84.5	4.2
Harina de pescado ^{2-A}	5.2	68.4	5.3	11.2	0.2	15.0	4.2
Pasta de soya ^{3-A}	8.2	50.0	1.3	8.4	3.0	37.3	4.2
Harina de kelp ^{4-B}	8.4	12.6	0.7	21.3	9.3	56.1	3.0
Harina de sargazo ^{5-C}	7.4	5.3	0.7	39.8	3.6	50.6	2.4
Aceite de sardina ^{6-A}	0.1	0.7	99.5	0.1	----	----	8.9
Lecitina de soya ^{7-D}	0.5	3.8	89.2	7.0	----	----	8.4
Premezcla de minerales ⁸	----	----	----	46.6	53.4	----	----
Premezcla de vitaminas ⁹	----	----	----	----	96.0	----	----

Valores promedio de tres réplicas, expresados en g 100g⁻¹ de materia seca, excepto humedad. Proteína cruda (N x 6.25); E.L.N.: Extracto libre de nitrógeno. ¹Harina integral de trigo HIT0312-1, ²Harina de pescado HP0312-1, ³Pasta de soya PS0312-1, ⁴Harina de kelp HK0410-1, ⁵Harina de sargazo HS0410-1, ⁶Aceite de sardina AS0406, ⁷Lecitina de soya LS0303, ⁸Premezcla de minerales MINCRUS0201 (Tabla 4), ⁹Premezcla de vitaminas VITCRU0201 (Tabla 3). E.L.N.= 100 – (% proteína + % extracto etéreo + % ceniza + % fibra cruda). ^APromotora Industrial Acuasistemas, S. A., La Paz, B.C.S., México. ^B"KELPROPAC" Productos del Pacífico, S.A. de C.V., Ensenada, B. C., México. ^CCICIMAR-IPN Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas Lote. 1. Colectada 05-20-06 Localidad: San Juan de La Costa, Baja California Sur, México. ^DODONAJI, Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales, S.A. de C.V., México, D.F.

7.2. Experimento 1. Efecto de la inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp., en el alimento sobre el crecimiento de *Litopenaeus vannamei*.

7.2.1. Condiciones de cultivo

Los intervalos de los parámetros de calidad del agua registrados durante el experimento fueron: temperatura 27 - 27.4 °C, salinidad 39.5 - 40 UPS, oxígeno disuelto 5.2 - 6.4 mg L⁻¹, amonio 0.069 - 0.266 mg L⁻¹, nitritos 0.221 - 0.410 mg L⁻¹ y nitratos 0.023 - 0.093 mg L⁻¹ (Tabla 6).

La toma de agua externa antes de entrar al sistema de acuarios sirvió como un valor de referencia, al comparar este valor con los demás, se encontro que el agua entro al sistema con concentraciones menores de amonio, nitritos y nitratos, una vez dentro del sistema, esta concentración se fue incrementando hasta los niveles reportados en el parrafo anterior.

Tabla 6. Valores promedio de parámetros fisicoquímicos del agua de mar durante 45 días de cultivo en el sistema experimental utilizado en el bioensayo de crecimiento.

Dieta	Nitritos mg L ⁻¹	Nitratos mg L ⁻¹	Amonio mg L ⁻¹
CONTROL	0.342 ± 0.4	0.062 ± 0.0	0.195 ± 0.2
HK 1%	0.256 ± 0.3	0.063 ± 0.0	0.184 ± 0.2
HK 4%	0.287 ± 0.4	0.075 ± 0.0	0.187 ± 0.1
HK 7%	0.225 ± 0.3	0.090 ± 0.1	0.152 ± 0.1
HK 10%	0.410 ± 0.6	0.067 ± 0.0	0.213 ± 0.2
HS 1%	0.268 ± 0.3	0.093 ± 0.1	0.253 ± 0.2
HS 4%	0.310 ± 0.4	0.075 ± 0.0	0.186 ± 0.1
HS 7%	0.289 ± 0.4	0.089 ± 0.1	0.236 ± 0.2
HS 10%	0.382 ± 0.5	0.073 ± 0.7	0.266 ± 0.2
Agua externa [@]	0.221 ± 0.0	0.023 ± 0.1	0.069 ± 0.2

Valores promedio de 2 réplicas ± desviación estándar. HK1% dieta con inclusión del 1% de harina de kelp, HK4% dieta con inclusión del 4% de harina de kelp, HK7% dieta con inclusión del 7% de harina de kelp, HK10% dieta con inclusión del 10% de harina de kelp, HS1% dieta con inclusión del 1% de harina de sargazo, HS4% dieta con inclusión del 4% de harina de sargazo, HS7% dieta con inclusión del 7% de harina de sargazo y HS10% dieta con inclusión del 10% de harina de sargazo. [@]Toma de agua externa, antes de entrar al sistema de cultivo.

7.2.2. Composición química proximal y de energía de los alimentos experimentales

La composición química proximal y de energía de las dietas se presenta en la Tabla 7. Se observa que el contenido proteínico de las dietas es muy similar, variando de 32.4 a 34.1%. Lo mismo ocurre con los lípidos que varían tan solo de 7.1 a 7.6%, por lo que las dietas pueden considerarse isoprotéicas e isolipídicas.

Los valores de energía tienden a disminuir ligeramente, al incrementarse el nivel de inclusión de kelp o sargazo, sin embargo, se mantuvieron cercanos a 17 kJ g^{-1} en todas las dietas. La razón entre la proteína animal y la proteína vegetal fue igual para todas las dietas. La razón entre la proteína cruda y la energía bruta también conservó la misma tendencia, con valores cercanos en todas las dietas.

El contenido de cenizas fue afectado por la inclusión de las harinas de sargazo o kelp, aumentando más en las dietas con mayor nivel de inclusión, presentando variaciones de 7.8 a 11.4% para sargazo y de 7.5 a 9.2% para kelp. El extracto libre de nitrógeno alcanzó valores de 46 a 50%, representando poca variación, por un adecuado balance de proteína vegetal y proteína animal en las dietas (Tabla 7).

Tabla 7. Composición química proximal y de energía de las dietas utilizadas en el experimento de crecimiento.

	CONTROL	HS 1%	HS 4%	HS 7%	HS 10%	HK 1%	HK 4%	HK 7%	HK 10%
Humedad ¹	8.5 ± 0.1	6.7 ± 0.3	6.9 ± 0.1	6.7 ± 0.1	7.2 ± 0.1	6.8 ± 0.0	6.8 ± 0.1	6.8 ± 0.0	7.0 ± 0.1
Proteína cruda ¹	33.6 ± 0.1	33.3 ± 0.5	33.8 ± 0.5	33.8 ± 0.1	33.5 ± 0.1	34.1 ± 0.5	33.9 ± 0.2	32.4 ± 0.2	33.5 ± 0.1
Extracto etéreo ¹	7.3 ± 0.1	7.1 ± 0.7	7.6 ± 0.1	7.2 ± 0.4	7.4 ± 0.1	7.4 ± 0.3	7.6 ± 0.1	7.0 ± 0.3	7.4 ± 0.1
Fibra cruda ¹	1.7 ± 0.0	1.8 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	2.1 ± 0.5	1.1 ± 0.3	2.1 ± 0.2
Cenizas ¹	7.3 ± 0.0	7.8 ± 0.0	8.0 ± 1.7	10.2 ± 0.0	11.4 ± 0.2	7.5 ± 0.0	8.1 ± 0.0	9.6 ± 0.0	9.2 ± 0.0
E.L.N. ²	50.1 ± 0.2	50.0 ± 1.0	49.4 ± 1.5	47.7 ± 0.6	46.6 ± 0.2	49.9 ± 0.8	48.4 ± 0.2	50.0 ± 0.4	47.8 ± 0.1
PA/PV ³	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
P/E ⁴	1.9	1.9	2.0	1.9	2.0	2.0	2.0	2.1	2.1
Energía Bruta (kJ g ⁻¹) ⁵	16.9	17	16.7	16.6	16.5	16.9	16.9	16.5	16.3

¹Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar, expresados en g 100g⁻¹ de materia seca, excepto humedad. HK1% dieta con inclusión del 1% de harina de kelp, HK4% dieta con inclusión del 4% de harina de kelp, HK7% dieta con inclusión del 7% de harina de kelp, HK10% dieta con inclusión del 10% de harina de kelp, HS1% dieta con inclusión del 1% de harina de sargazo, HS4% dieta con inclusión del 4% de harina de sargazo, HS7% dieta con inclusión del 7% de harina de sargazo y HS10% dieta con inclusión del 10% de harina de sargazo. ²ELN: extracto libre de nitrógeno calculado de la fórmula E.L.N.= 100 – (% proteína + % extracto etéreo + % ceniza + % fibra cruda). ³Proteína Animal/Proteína Vegetal. ⁴Proteína/Energía en mg kJ⁻¹ EB. ⁵Proteína x 16.7 kJ g⁻¹ lípidos x 37.7 kJ g⁻¹ y carbohidratos x 17 kJ g⁻¹ Tacon (1989).

7.2.3. Estabilidad de los alimentos en el agua

Los valores de materia seca retenida (MSR%), para las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento después de una hora de inmersión en agua de mar (40 UPS y 27 °C), variaron de 85.6 a 90.5%. Al comparar la dieta Control contra las dietas con kelp, se encontró que la dieta HK4% presentó el valor más alto de MSR (90.5%) siendo significativamente mayor ($p<0.05$) con respecto a las dietas Control, HK1% y HK10%. En la comparación de la dieta Control con las dietas con sargazo, se encontró que la dieta HS1% presentó el valor más alto de MSR (89.0%) siendo significativamente mayor ($p<0.05$) con respecto a la dieta HS 10% (Fig. 3).

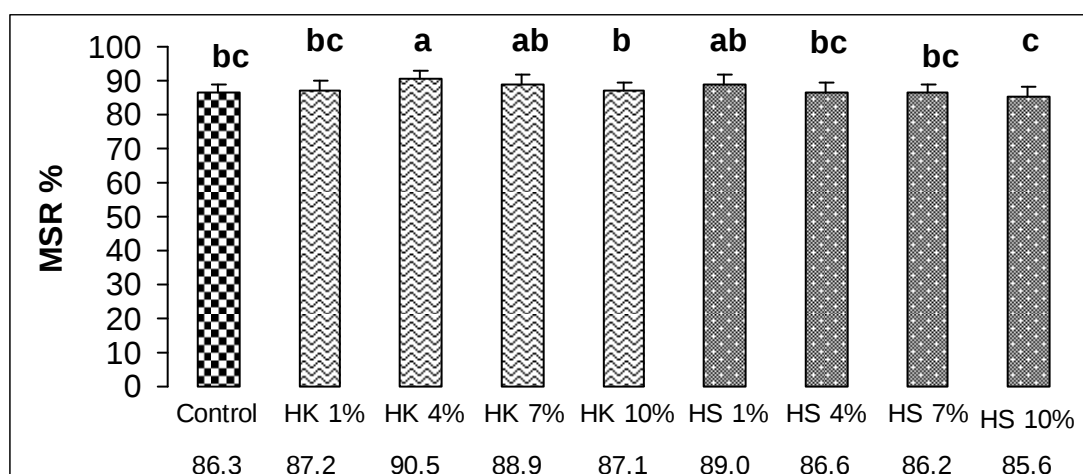


Figura 3. Pcentajes de materia seca retenida (MSR%), después de una hora de inmersión en agua de mar, de las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento.

7.2.4. Parámetros zootécnicos del bioensayo de crecimiento

Al realizar una análisis de covarianza de los traslapes y elevaciones de las líneas de regresión de las curvas del crecimiento relativo diario (Fig. 4) no se encontraron diferencias significativas en los traslapes ($p = 0.25$). Se encontraron diferencias significativas en las elevaciones ($p<0.05$). En la Tabla 8, se aprecian las diferencias en los coeficientes de regresión (b) de cada línea y el número de valores tomados como referencia para el análisis de cada línea de regresión para una de las dietas.

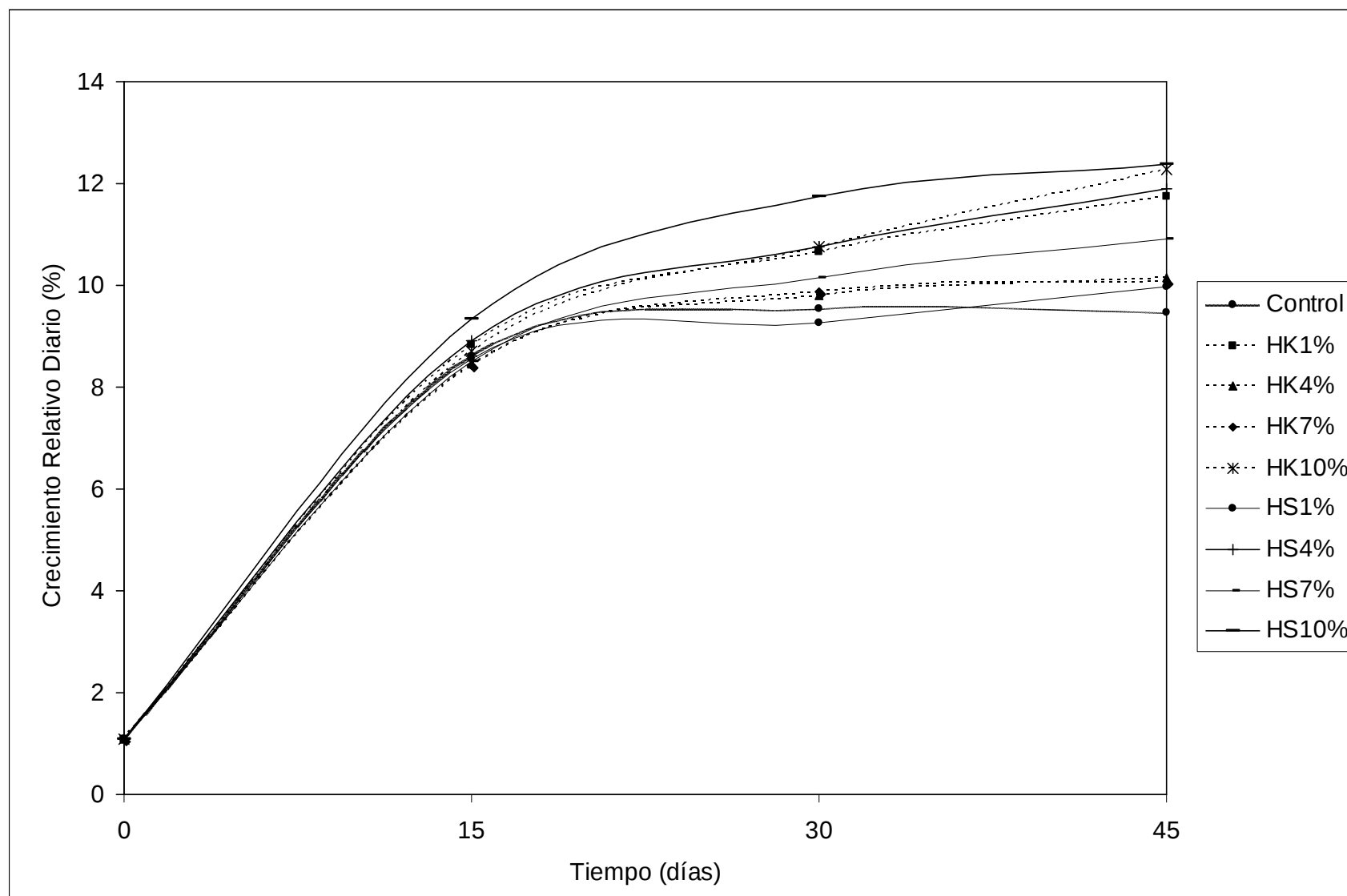


Figura 4. Curvas de crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con diferentes niveles de inclusión de harinas de *Macrocyctis pyrifera* y *Sargassum* spp., durante 45 días.

Tabla 8. Valores en los coeficientes de regresión (b) determinados por el análisis de covarianza. Cada línea de regresión correspondió a una dieta experimental, utilizadas en el bioensayo de crecimiento de *Litopenaeus vannamei*.

Regresión por dieta	b	n
Control	5.0	9
HK1%	7.9	9
HK4%	7.3	9
HK7%	9.1	9
HK10%	7.5	9
HS1%	5.8	9
HS4%	8.8	9
HS7%	9.3	9
HS10%	6.1	9

b = coeficiente de regresión para cada línea de regresión (una para cada dieta). n = Valores de crecimiento relativo diario correspondiente a cada dieta (tres al día 15, tres al 30 y tres al 45).

A cada línea de regresión (línea por dieta) le corresponde un valor diferente del coeficiente de regresión (b), el valor máximo correspondió a las dietas con 7% de inclusión de kelp o sargazo (HK7 y HS7%) con 9.1 y 9.3, y el valor mínimo a la dieta Control con 5. El valor de b disminuyó al pasar de las dietas con 7% de inclusión (HK7 y HS7%) a las dietas con 10% de inclusión (HK10 y HS10%) de kelp o sargazo, es decir, en el primer caso de 9.1 a 7.5 y en el segundo de 9.3 a 6.1.

Durante el experimento de crecimiento la supervivencia varió de 87 a 100%, y no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) entre las diferentes dietas con kelp o sargazo (Fig. 5).

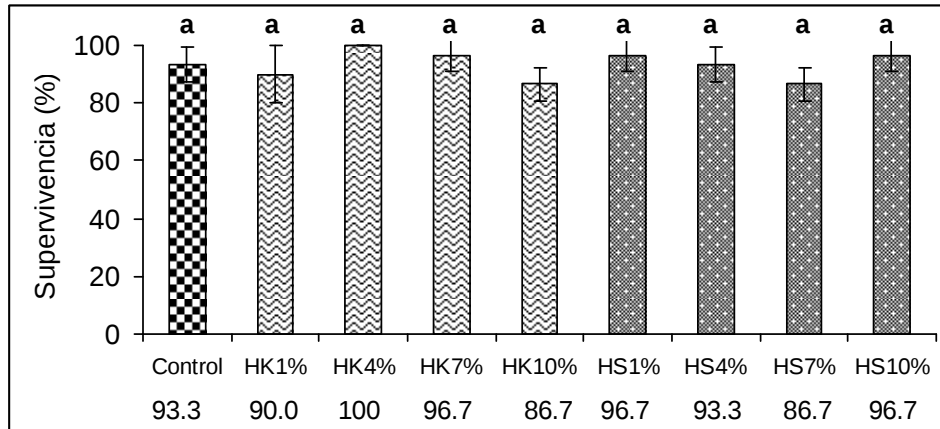


Figura 5. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre la supervivencia de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras iguales sobre las barras indican que no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$). Los valores inferiores en cada Figura indican los promedios de cada dieta para cada parámetro zootécnico, tomados de la Tabla 9.

El peso promedio final se incrementó significativamente ($p<0.05$) de 5.2 g con la dieta Control, a 6.2, 6.4, 6.3 y 6.5 g con las dietas HK1%, HK10%, HS4% y HS10% (Fig. 6).

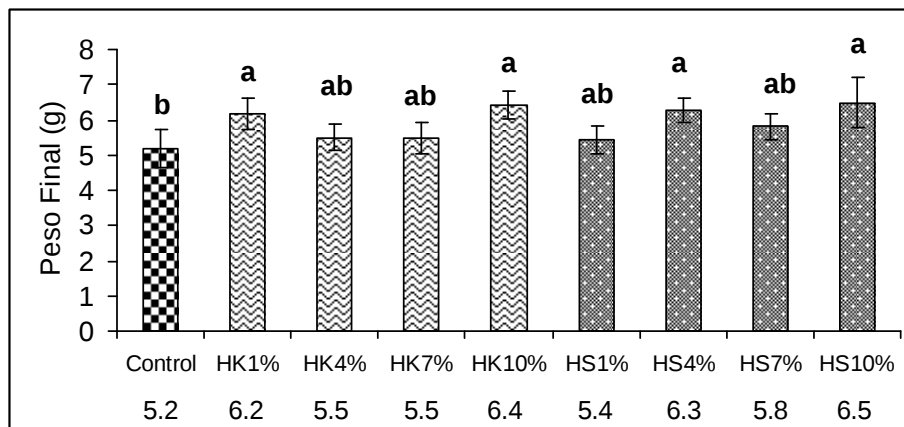


Figura 6. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el peso promedio final de juveniles de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

El crecimiento relativo diario se incrementó de la misma manera que el peso final, entre las diferentes dietas con kelp o sargazo. Las dietas HK10% y HS10% tuvieron

crecimientos de 12.2 y 12.3%, que fueron superiores ($p<0.05$) a la dieta Control con 9.5% (Fig. 7). No hubo diferencias entre las dietas con kelp o sargazo ($p>0.05$).

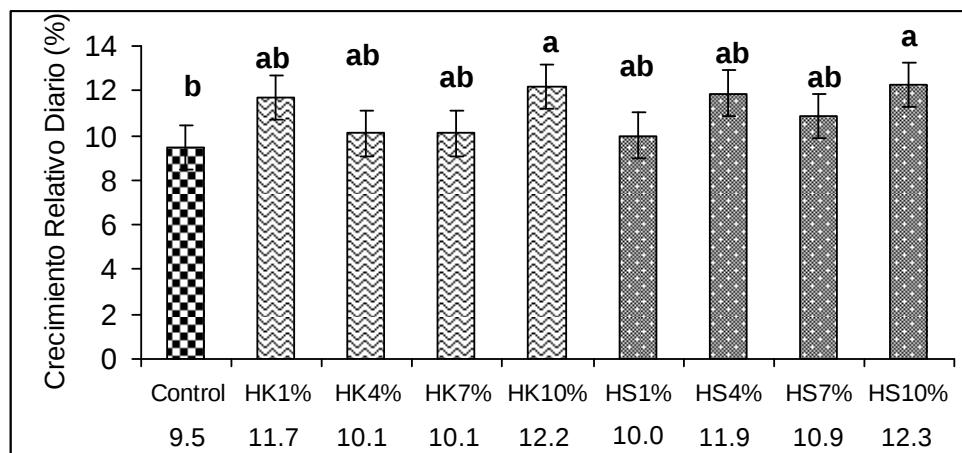


Figura 7. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el crecimiento relativo diario de juveniles de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

No se presentaron diferencias significativas en el consumo del alimento entre el Control y las diferentes dietas con kelp o sargazo, sin embargo, la dieta HS10% registró el mayor consumo de alimento con 257.1 mg/camarón/día y la dieta HK7% presentó el más bajo con 158.1 mg/camarón/día, entre ambas hubo diferencias significativas ($p<0.05$) (Fig. 8).

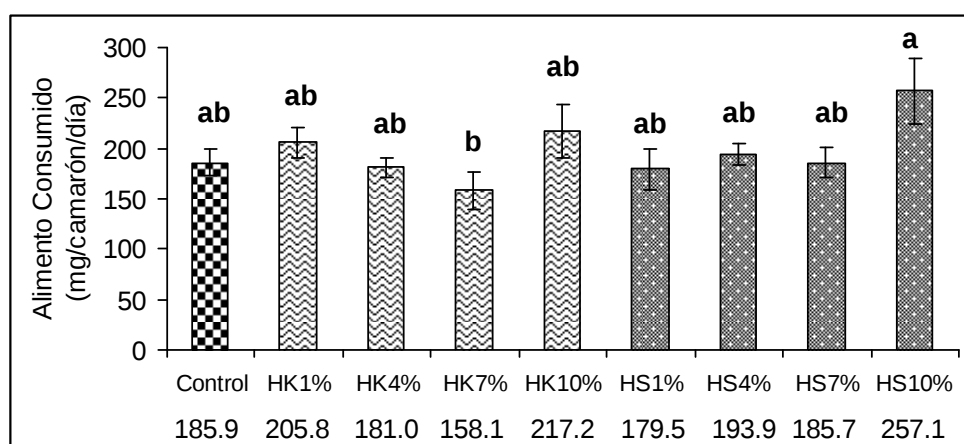


Figura 8. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el alimento consumido de juveniles de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Igualmente, no se presentaron diferencias significativas en la proteína ingerida. La dieta HS10% alcanzó un valor de 86.1 mg/camarón/día y fue mayor ($p<0.05$) al obtenido por la dieta HK7% que registró un consumo de 51.1 mg/camarón/día. Misma tendencia que en el alimento consumido (Fig. 9).

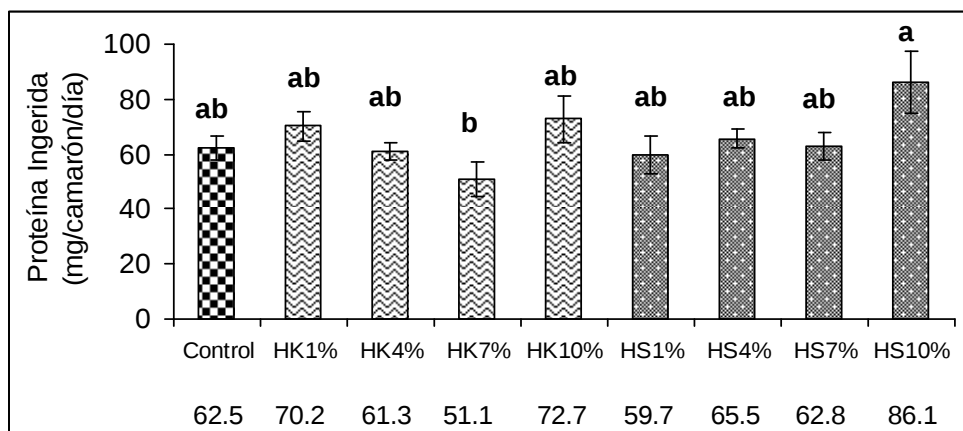


Figura 9. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre la proteína ingerida de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

El factor de conversión alimenticia con las dietas Control y HS10% alcanzó un valor de 2.1 y fue superior ($p<0.05$) al de la dieta HK7% que tuvo un valor de 1.6, no se detectaron diferencias entre las demás dietas (Fig. 10).

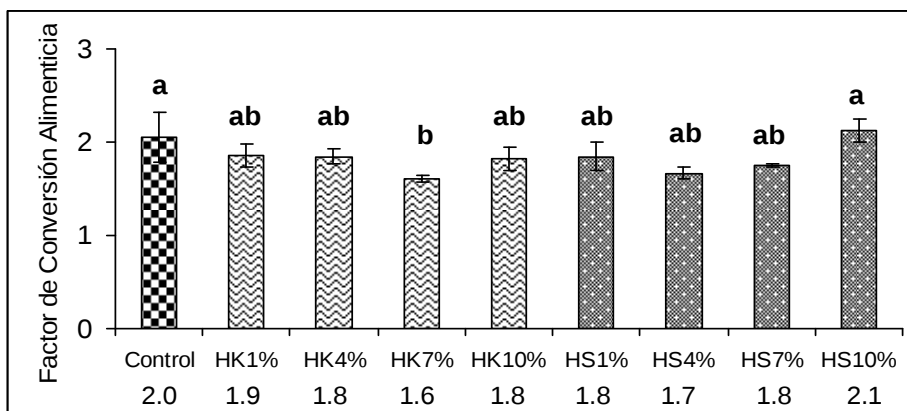


Figura 10. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el factor de conversión alimenticia de juveniles de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). Valores inferiores indican los promedios de cada dieta tomados de la Tabla 9.

La dieta HK7% tuvo la mayor tasa de eficiencia proteica con un valor de 1.9, superior ($p<0.05$) al de la dieta HS10% que alcanzó un valor de 1.4 (Fig. 11). La eficiencia proteica tuvo un comportamiento inverso al registrado con el FCA, es decir, valores altos en el FCA corresponden a valores bajos de EP.

La eficiencia proteica obtenida con las demás dietas presentó un comportamiento similar al registrado por el alimento consumido, la proteína ingerida y factor de conversión alimenticia, es decir, sin diferencias significativas ($p>0.05$).

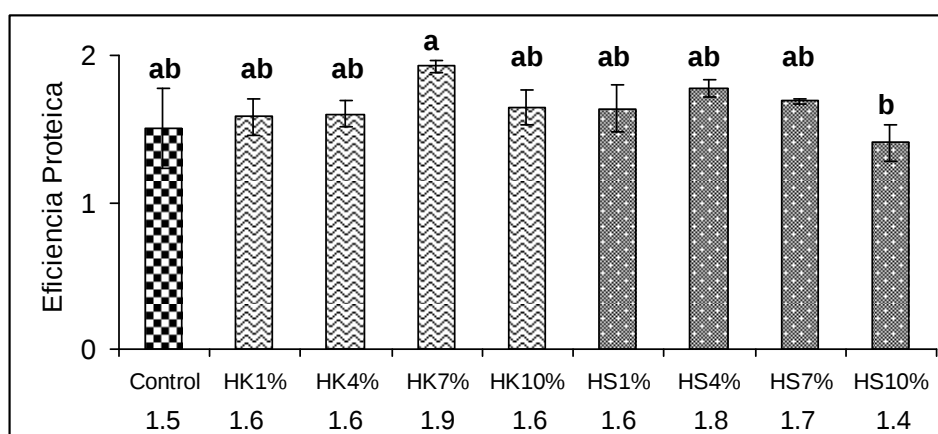


Figura 11. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre la eficiencia proteica de juveniles de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Los números (1, 4, 7 y 10%) corresponden al nivel de inclusión de harina de kelp o sargazo en el alimento. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p<0.05$). Valores inferiores indican los promedios de cada dieta tomados de la Tabla 9.

Todos los resultados en los parámetros zootécnicos del bioensayo de crecimiento, se presentan en la Tabla 9. Se visualiza la información del peso promedio inicial de los camarones y la desviación estándar para cada dieta en cada uno de los parámetros zootécnicos evaluados en el bioensayo de crecimiento.

Tabla 9. Resultados zootécnicos del bioensayo de crecimiento con el camarón *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días.

Dieta	Peso Promedio Inicial (g)	Supervivencia (%)	Peso Promedio Final (g)	Crecimiento Relativo Diario (%)	Alimento Consumido (mg/camarón/día)	Proteína Ingerida (mg/camarón/día)	Factor de Conversión Alimenticia	Tasa de Eficiencia Proteica
CONTROL	1.1 ^a ± 0.0	93.3 ^a ± 5.8	5.2 ^b ± 0.6	9.5 ^b ± 3.8	185.9 ^{ab} ± 13.2	62.5 ^{ab} ± 4.4	2.1 ^a ± 0.3	1.5 ^{ab} ± 0.2
HK 1%	1.1 ^a ± 0.0	90 ^a ± 10	6.2 ^a ± 0.4	11.7 ^{ab} ± 2.6	205.8 ^{ab} ± 15.2	70.2 ^{ab} ± 5.2	1.9 ^{ab} ± 0.1	1.6 ^{ab} ± 0.1
HK 4%	1.1 ^a ± 0.0	100 ^a ± 0.0	5.5 ^{ab} ± 0.4	10.1 ^{ab} ± 3.7	181.0 ^{ab} ± 9.3	61.3 ^{ab} ± 3.2	1.9 ^{ab} ± 0.1	1.6 ^{ab} ± 0.1
HK 7%	1.1 ^a ± 0.0	96.7 ^a ± 5.8	5.5 ^{ab} ± 0.4	10.1 ^{ab} ± 2.3	158.1 ^b ± 19.2	51.1 ^b ± 6.2	1.6 ^b ± 0.0	1.9 ^a ± 0.1
HK 10%	1.1 ^a ± 0.0	86.7 ^a ± 5.8	6.4 ^a ± 0.4	12.2 ^a ± 2.7	217.2 ^{ab} ± 26.0	72.7 ^{ab} ± 8.7	1.8 ^{ab} ± 0.1	1.7 ^{ab} ± 0.1
HS 1%	1.1 ^a ± 0.0	96.7 ^a ± 5.8	5.4 ^{ab} ± 0.4	10.0 ^{ab} ± 3.1	179.5 ^{ab} ± 20.6	59.7 ^{ab} ± 6.8	1.9 ^{ab} ± 0.2	1.6 ^{ab} ± 0.1
HS 4%	1.1 ^a ± 0.0	93.3 ^a ± 5.8	6.3 ^a ± 0.3	11.9 ^{ab} ± 2.8	193.9 ^{ab} ± 10.0	65.5 ^{ab} ± 3.4	1.7 ^{ab} ± 0.1	1.8 ^{ab} ± 0.1
HS 7%	1.1 ^a ± 0.0	86.7 ^a ± 5.8	5.8 ^{ab} ± 0.4	10.9 ^{ab} ± 2.1	185.7 ^{ab} ± 15.4	62.8 ^{ab} ± 5.2	1.8 ^{ab} ± 0.01	1.7 ^{ab} ± 0.0
HS 10%	1.1 ^a ± 0.0	96.7 ^a ± 5.8	6.5 ^a ± 0.7	12.3 ^a ± 2.8	257.1 ^a ± 33.1	86.1 ^a ± 11.1	2.1 ^a ± 0.1	1.4 ^b ± 0.1

Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar. HK1% dieta con inclusión del 1% de harina de kelp, HK4% dieta con inclusión del 4% de harina de kelp, HK7% dieta con inclusión del 7% de harina de kelp, HK10% dieta con inclusión del 10% de harina de kelp, HS1% dieta con inclusión del 1% de harina de sargazo, HS4% dieta con inclusión del 4% de harina de sargazo, HS7% dieta con inclusión del 7% de harina de sargazo y HS10% dieta con inclusión del 10% de harina de sargazo. Valores con diferente superíndice dentro de las columnas indican que hay diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey y de Nemenyi ($p < 0.05$).

7.2.5. Análisis de varianza de dos vías aplicado a los pesos finales de crecimiento.

Al agrupar los datos de peso final de los camarones por dieta en un análisis de dos vías (nivel de inclusión y tipo de alga) se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el nivel de inclusión ($p = 0.0031$). No se encontraron diferencias por el tipo de alga (kelp o sargazo), tampoco hubo interacción de ambos. Por nivel de inclusión (0, 1, 4, 7 y 10%) independientemente del tipo de alga, el peso final de los camarones se incrementó en 5.2, 5.8, 5.9, 5.6 y 6.5 g. Las diferencias significativas corresponden al 0% inclusión con 5.2 g en comparación con el 10% con 6.5 g (Fig. 12).

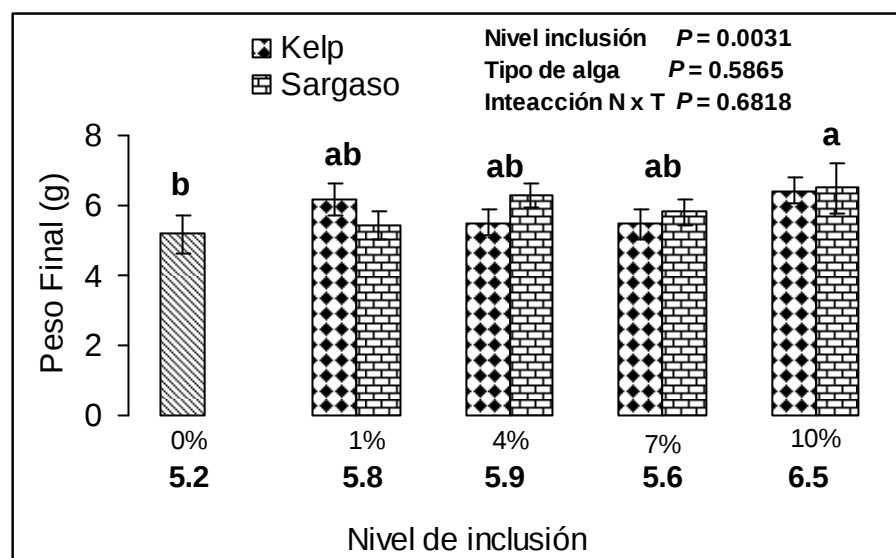


Figura 12. Efecto de la inclusión de harinas de kelp y sargazo sobre el peso final de juveniles de *Litopenaeus vannamei* al cabo de 45 días del bioensayo de crecimiento. Análisis de varianza a dos vías (nivel de inclusión vs tipo de alga). Los números 1, 4, 7 y 10% corresponden a los niveles de inclusión de las harinas de kelp y sargazo. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) en el nivel de inclusión.

7.3. Experimento 2. Efecto de la inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp., en el alimento sobre la digestibilidad *in vivo* en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

7.3.1. Composición química proximal y de energía de los alimentos.

Los alimentos utilizados en el bioensayo 2 fueron isoprotéicas, isolipídicas e isoenergéticas (32% proteína cruda, 7% lípidos y 16 kJ g⁻¹ energía, en promedio). El contenido de cenizas fue afectado por la inclusión de las harinas de kelp y sargazo, conforme se incrementó el nivel de inclusión de las harinas de kelp y sargazo, se incrementaron los valores de las cenizas de 8.7 a 12.6 g 100g⁻¹. Las razones proteína animal:proteína vegetal (PA/PV) y proteína:energía (P/E) presentaron el mismo comportamiento que las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento.

Las dietas HK15% y HS15% señaladas con recuadro en la Tabla 10, disminuyeron ligeramente su contenido de proteína, lípidos, energía, PA/PV y P/E por la inclusión del 15% de la harina de kelp y el 15% de la harina de sargazo. Estas dietas se utilizaron para evaluar la digestibilidad de las macroalgas y presentan la composición señalada en la Tabla 3b.

7.3.2. Estabilidad en el agua de los alimentos

Los valores de materia seca retenida (MSR%) para las dietas utilizadas en el bioensayo de digestibilidad *in vivo*, después de una hora de inmersión en agua de mar (40 UPS y 27 °C) variaron de 89.6 a 94.1%. Al comparar la dieta Control contra las dietas con kelp encontramos que la dieta HK10% presentó el valor más alto de MSR (94.1%) pero no fue significativamente diferente al Control ($p > 0.05$). En la comparación de la dieta Control contra las dietas con sargazo se tiene que la dieta HS4% presentó el valor más alto de MSR (93.3) pero sin diferencias significativas con las demás dietas. Al comparar las dietas con inclusión de kelp o sargazo se presentaron diferencias significativas entre la dieta HK10% y las dietas HS10% y HS15%, es decir, hubo una mayor estabilidad en la dieta HK10% (Fig. 13).

Tabla 10. Composición química proximal y de energía de las dietas utilizadas en el experimento de digestibilidad *in vivo*

	CONTROL	HK4%	HS4%	HK10%	HS10%	HK15%*	HS15%*
Humedad ¹	7.4 ± 0.2	7.4 ± 0.1	8.3 ± 0.2	8.3 ± 0.2	8.0 ± 0.0	8.4 ± 0.2	8.7 ± 0.1
Proteína cruda ¹	31.9 ± 0.3	32.2 ± 0.3	32.4 ± 0.1	32.8 ± 0.2	32.0 ± 0.0	29.7 ± 0.3	28.4 ± 0.1
Extracto etéreo ¹	7.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1	7.0 ± 0.2	6.6 ± 0.2	5.7 ± 0.1	6.7 ± 0.1
Cenizas ¹	8.7 ± 0.0	9.4 ± 0.0	10.2 ± 0.1	10.5 ± 0.1	12.6 ± 0.0	10.5 ± 0.1	13.5 ± 0.0
Fibra cruda ¹	0.6 ± 0.0	0.8 ± 0.1	2.1 ± 0.0	1.5 ± 0.0	1.8 ± 0.1	2.2 ± 0.2	1.5 ± 0.2
ELN ²	52.1 ± 0.7	50.9 ± 0.7	49.0 ± 1.4	48.2 ± 0.4	47.5 ± 1.2	51.9 ± 0.6	50.4 ± 0.9
PA/PV ³	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9
P/E ⁴	1.9	1.9	1.9	1.9	2.0	1.8	1.8
Energía (kJ g ⁻¹) ⁵	16.9	16.7	16.6	16.4	16.1	16.1	15.8

¹Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar, expresados en g 100g⁻¹ de materia seca, excepto humedad. HK4% dieta con inclusión del 4% de harina de kelp, HK10% dieta con inclusión del 10% de harina de kelp, HS4% dieta con inclusión del 4% de harina de sargazo, HS10% dieta con inclusión del 10% de harina de sargazo, Control + HK15% dieta con inclusión del 85% de la dieta Control + 15% de harina kelp y Control + HS15% dieta con inclusión del 85% de la dieta Control + 15% de harina sargazo. ²ELN: extracto libre de nitrógeno calculado de la fórmula E.L.N.= 100 – (% proteína + % extracto etéreo + % ceniza + % fibra cruda). ³Proteína animal/proteína vegetal. ⁴Proteína/Energía en mg kJ⁻¹. ⁵Proteína x 16.7 kJ g⁻¹; lípidos x 37.7 kJ g⁻¹ y carbohidratos x 17 kJ g⁻¹ Tacon (1989).

* Dietas utilizadas para evaluar la digestibilidad de las harinas de kelp y sargazo.

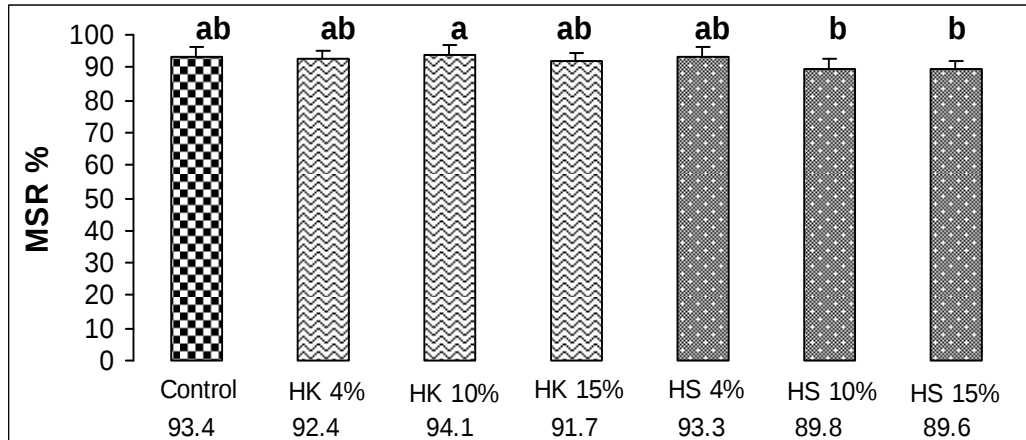


Figura 13. Valores de materia seca retenida (MSR%) después de una hora de inmersión en agua de mar de las dietas para el bioensayo de digestibilidad *in vivo*.

7.3.3. Digestibilidad *in vivo* de los alimentos.

Los resultados de los coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDa) de la materia seca, la proteína, los carbohidratos y los lípidos de los alimentos del bioensayo de digestibilidad *in vivo* se presentan en la Tabla 11.

La dieta HK10% registró el valor más bajo de digestibilidad aparente de materia seca (60%). Fue diferente al valor obtenido en el tratamiento HK 4% con un valor de 70.1% ($p < 0.05$). Las dietas Control, HK4%, HS4% y HS10% tuvieron valores similares entre sí. La dieta HK10% presentó el valor más bajo de aprovechamiento de la proteína con un valor de 73.3%, presentó diferencias ($p < 0.05$) con respecto a las dietas Control, HK4 y HS10% que obtuvieron valores de 81.4, 81.1 y 80.5%.

La digestibilidad aparente de los carbohidratos de las dietas varió de 86.5 con la dieta HK10% a 90.5% con la dieta HS10%, pero no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) al compararse entre ellas. La digestibilidad aparente de lípidos de las dietas variaron de 79 a 84%, siendo la dieta HK4% con la que se obtuvo el mayor valor de digestibilidad aparente (85.5%), mientras que con la dieta HK10% se registró el valor más bajo 79.3% ($p < 0.05$) (Tabla 11).

Tabla 11. Coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDa %) de la materia seca, la proteína, los carbohidratos y los lípidos de las dietas del bioensayo de digestibilidad *in vivo* en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

Dieta	Materia seca	Proteína	Carbohidratos	Lípidos
Control	69.6 ^{ab} ± 1.1	81.4 ^a ± 0.1	87.8 ^a ± 1.3	83.8 ^{ab} ± 0.0
HK4%	70.1 ^a ± 2.0	81.1 ^a ± 0.7	88.2 ^a ± 3.0	85.5 ^a ± 2.1
HS4%	68.9 ^{ab} ± 0.4	79.7 ^{ab} ± 0.8	89.0 ^a ± 1.1	82.9 ^{ab} ± 2.8
HK10%	60.0 ^b ± 2.0	73.3 ^b ± 0.7	86.5 ^a ± 2.7	79.3 ^b ± 3.4
HS10%	69.1 ^{ab} ± 2.8	80.5 ^a ± 0.9	90.5 ^a ± 1.8	84.0 ^{ab} ± 2.1

Valores promedio de cuatro réplicas ± desviación estándar. HK4% dieta con la inclusión del 4% de harina de kelp. HS4% dieta con la inclusión del 4% de harina de sargazo. HK10% dieta con la inclusión del 10% de harina de kelp. HS10% dieta con la inclusión del 10% de harina de sargazo. Valores con diferente letra dentro de las columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de Nemenyi.

7.3.4. Digestibilidad *in vivo* de los ingredientes.

Los resultados en los coeficientes de digestibilidad aparente de la materia seca, la proteína, los carbohidratos y los lípidos de las harinas de kelp y sargazo se presentan en la Tabla 12.

La digestibilidad aparente de materia seca de la harina de sargazo fue de 70.1%, significativamente ($p < 0.05$) superior a la de la harina de kelp, que fue de 24.3%. En la digestibilidad de lípidos y carbohidratos no se presentaron diferencias significativas entre las dos harinas ($p > 0.05$). Sin embargo al comparar los valores de digestibilidad aparente de carbohidratos obtenidos por kelp o sargazo 85.7 y 106.7 % respectivamente, sargazo fue superior en un 25%.

Tabla 12. Coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDa%) de proteína, carbohidratos, lípidos y materia seca de las harinas de kelp y sargazo en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

Ingrediente	Materia seca	Proteína	Carbohidratos	Lípidos	PDI ¹	EDI ²	PDI/EDI ³
Kelp	24.3 ^b ± 6.7	35.3 ^b ± 1.2	85.7 ^a ± 3.0	79.3 ^a ± 12.3	0.5	1.3	0.4
Sargazo	70.1 ^a ± 6.0	76.2 ^a ± 3.1	106.7 ^a ± 1.7	81.4 ^a ± 9.2	0.5	1.3	0.4

Valores promedio de cuatro réplicas ± desviación estándar. Valores con diferente letra dentro de las columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). ¹Proteína digestible del ingrediente mg g^{-1} (PDI) calculada usando los valores de digestibilidad aparente de los ingredientes y los valores de los análisis químicos proximales de las harinas de kelp y sargazo (Tabla 5) al 15% de inclusión en el alimento (Nutrimento*15/100). ²Energía digestible del ingrediente kJ g^{-1} (EDI) calculada con la fórmula propuesta por Cruz-Suárez *et al.* (2000a) con los valores de proteína 16.7 kJ g^{-1} , lípidos 37.7 kJ g^{-1} y carbohidratos 17 kJ g^{-1} (Tacon, 1989). Relación proteína digestible ingrediente/energía digestible ingrediente (PDI/EDI) en mg kJ^{-1} EB. ^{1,2 y 3} son valores teóricos Calculados de las Tablas 11 y 5 con las fórmulas propuestas por Cruz-Suárez *et al.* (2000b).

La proteína digestible (PDI) y la energía digestible (EDI) de las harinas de kelp y sargazo fueron similares (Tabla 12). La PDI tuvo valores de 0.5, la EDI valores de 1.3 y la razón de PDI/EDI registró un valor de 0.4 para ambas algas, lo que indica que hubo un balance similar en el aprovechamiento de la proteína y energía digestibles de los alimentos que contienen estas algas.

8. DISCUSIÓN

8.1. Efecto de la inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp., en el crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

La calidad del agua de mar se mantuvo dentro de los valores considerados adecuados para el cultivo de camarones peneidos a lo largo del estudio (Lawrence, 1985). Las dietas evaluadas fueron isoproteicas, isolipídicas e isoenergéticas, luego entonces las tasas de supervivencia, crecimiento, y ganancia en peso obtenidas

durante los 45 días del experimento pueden considerarse como respuestas a los niveles de inclusión de las harinas de kelp y sargazo (1.4.7 y 10%) en los alimentos.

Uno de los principales elementos a evaluar es la calidad del alimento, ya que como lo mencionan Mendoza *et al.* (1996) la calidad de los nutrimentos contenidos en el alimento son uno de los principales factores que influyen en el crecimiento de los camarones. Esta calidad del alimento se relaciona con la estabilidad de las dietas, se ha reportado que las harinas de kelp y sargazo incrementan la capacidad de absorción de agua de acuerdo al nivel de alginatos en el alimento, generando una actividad aglutinante y texturizante en el alimento que evita pérdidas considerables de partículas del alimento. Según reportes de Cruz-Suárez *et al.* (2000a) una dieta con 3% de alginatos puros puede llegar a un nivel de hidratación de 180% de su peso en agua. Probablemente este efecto se presentó en las dietas experimentales con kelp o sargazo ya que la estabilidad de las dietas no disminuyó con respecto al Control. Sin embargo, en nuestro trabajo, no se evaluó la capacidad de absorción de los pelets en agua de mar para afirmar esta aseveración, considerando que es un aspecto importante de evaluar con las dietas experimentales para precisar la funcionalidad de la dietas y hacer una comparación con otras variables, como la textura, estabilidad y pérdida de nutrimentos (Cruz-Suárez *et al.* 2000a; Casas-Valdez *et al.* 2002).

Al comparar la estabilidad de las dietas con inclusión de kelp con la dieta Control, se presentaron diferencias significativas respecto a la dieta HK4%, y la inclusión del 10% de kelp disminuyó significativamente la estabilidad respecto a la dieta HK4%. En las dietas con inclusión de sargazo hay una tendencia significativa a disminuir la estabilidad por el nivel de inclusión entre el 1% y el 10%, y no se presentaron diferencias respecto a la dieta Control. A este respecto, según Imenson (1990) los alginatos derivados de kelp forman geles elásticos, con baja tendencia a la sinéresis y capacidad de sufrir deformación, y los alginatos de sargazo forman geles rígidos, con baja capacidad de unión con el agua y tendencia a la sinéresis (pérdida de agua por proceso de exudación del gel, que produce su contracción). Ahmad & Raji (1990)

mencionan que las algas pardas como es el caso de kelp, que crecen en aguas frías suelen producir un alginato de buena calidad, mientras que las que crecen en aguas entre templadas y tropicales como lo es sargazo, producen a menudo un alginato de baja viscosidad. Estos son aspectos importantes a considerar y que probablemente podrían explicar por qué en las dietas con inclusión de sargazo al 10%, se pierde poder aglutinante y estabilizador en comparación a las de kelp.

La calidad nutrimental de las dietas experimentales se reflejó en la composición química proximal de las mismas, ya que fueron, isoproteicas, isolípidicas e isoenergéticas, por lo que la adición de las algas de kelp o sargazo no influyó de manera importante en el contenido proteínico, lípidico y energético de las dietas. Tampoco era de esperarse que la inclusión de kelp o sargazo afectara la supervivencia de los camarones, este parámetro fue superior al 86% en todas las dietas, y las muertes de los camarones fueron por cuestiones de manejo, que no son atribuibles a las condiciones de cultivo dentro del laboratorio.

Algunas investigaciones han puesto en evidencia que las harinas de kelp y sargazo pueden ser utilizadas como aditivos en alimentos para juveniles de *L. vannamei*, mejorando su crecimiento (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a; Casas-Valdez *et al.*, 2002). Estos trabajos reportan un incremento significativo en el crecimiento y en la tasa de crecimiento, a niveles de inclusión del 2 y 4%, atribuyendo este comportamiento a incrementos en el alimento consumido, que se provocan por la inclusión de kelp o sargazo en el alimento. En este estudio se tuvo una diferencia significativa en el crecimiento de los camarones expresado en peso final con las dietas con 1 y 10% de inclusión de kelp y 4 y 10% de sargazo, con respecto al Control. Esta dinámica en el crecimiento estuvo relacionada con el consumo del alimento, ya que se encontró una correlación positiva ($r = 0.73$; $p < 0.05$) entre el alimento consumido y el peso final, siendo éste un efecto atribuido a la inclusión de kelp o sargazo (Anexo 2).

El crecimiento de los camarones es un reflejo del incremento en la biomasa, este parámetro productivo se determinó a través del crecimiento relativo diario (CRD). Las

dietas con 10% de inclusión de harina de kelp o sargazo tuvieron los valores más altos de crecimiento relativo diario (CRD) con 12.2 y 12.3%, representando un aumento de 29 y 31%, y fueron significativamente diferentes al valor de la dieta Control, que registró un CRD de 9.5%. Este resultado tuvo un coeficiente de correlación positivo ($r = 0.72$; $p < 0.05$) al compararse con el alimento consumido, demostrando un efecto de incremento en el CRD con el 10% de inclusión de las algas. Este valor pudiera atribuirse a incrementos en el consumo del alimento, el cual es provocado por la inclusión de las algas, como lo mencionan Cruz-Suárez *et al.* (2000).

Las elevaciones de las líneas de regresión de las dietas estudiadas fueron estadísticamente diferentes. Aparentemente las dietas HK7% y HS7% tuvieron la mayor elevación en el crecimiento relativo diario, sin embargo, no se puede afirmar ya que se necesitan cálculos con proyecciones ortogonales para detectar qué líneas de regresión son estadísticamente diferentes, y a que tratamientos corresponden.

El consumo del alimento es un parámetro que pone en evidencia la aceptación o rechazo de los alimentos y que ésta es en función de los elementos agregados en la dieta (nutrimentos, atractantes, etc.) (Mendoza *et al.*, 1996). Las dietas que contenían el mayor nivel de inclusión (10%) de kelp o sargazo presentaron los valores más altos en cuanto a consumo de alimento (217 y 257 mg/camarón/día), estos valores representan un aumento de 17 y 38% con respecto al tratamiento Control (186 mg/camarón/día), sin embargo no fueron significativamente diferentes. Rivera *et al.* (2002) reportan 32% de incremento en el consumo del alimento al evaluar un alimento con 10% de inclusión de kelp en comparación con la dieta Control (sin inclusión de kelp), al suministrarse a juveniles de *L. vannamei* (400 mg peso inicial) evaluados durante 25 días, utilizando 10 camarones por acuario con tres réplicas por dieta. En este sentido Heinen (1980); Carr & Derby (1986) y Tierney & Atema (1988) mencionan que los compuestos propios de las algas con capacidad atractante pueden ser los aminoácidos, los compuestos nitrogenados volátiles y algunos azúcares podrían estar participando en esta función.

La propiedad atractante y fagoestimulante de kelp ha sido reportada con anterioridad en estudios de alimentación con abulones y erizos (Viana *et al.*, 1994; Lawrence *et al.*, 1997). Esta propiedad también ha sido demostrada en reportes anteriores para kelp y sargazo, al ser incorporadas en alimentos balanceados para juveniles de *L. vannamei* (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a; Casas-Valdez *et al.*, 2002). Aparentemente, un mayor nivel de inclusión de kelp o sargazo representaría un mayor consumo de alimento, por las propiedades de las algas de ser atractantes y texturizantes, que inducirían a una ingesta mayor. Los camarones alimentados con la dietas HK10% y HS10% son los que presentaron un mayor consumo de alimento, este incremento no fue significativamente mayor al obtenido por las demás dietas incluyendo a la Control. Tampoco se presentó un efecto deterrente o de rechazo del mismo, que se presenta cuando se afecta el sabor y la palatabilidad de los alimentos (Syed & Suresh, 2002).

La dieta HK7% registró el valor más bajo de alimento consumido con 158 mg/camarón/día, y hubo diferencia significativa al compararla con la dieta HS10%. Esta respuesta puede tener algunas explicaciones posibles: a) Que a este nivel de inclusión con esta alga no se hizo evidente un efecto fagoestimulante en el alimento, o b) que se presentó una mejor eficiencia en la utilización del alimento, ya que el peso promedio obtenido por los camarones con esta dieta (HK7%) fue similar al obtenido con las demás dietas con inclusión de kelp o sargazo.

Guillaume & Ceccaldi (1999) mencionan que la cantidad y calidad de la proteína en la dieta influyen sobre su consumo por parte de los camarones. La proteína ingerida siguió el mismo comportamiento que el alimento consumido, ya que esta se calcula con el valor de proteína en los alimentos. Las dietas evaluadas en esta investigación, no se afectaron en su composición de proteína por la inclusión de kelp o sargazo, esto probablemente indique que uno de los factores que influyó en el consumo del alimento fue la textura, ya que al mejorarse ésta, por el nivel de inclusión de kelp o sargazo, se favoreció el consumo del mismo, aunque cabe resaltar que solo se

presentaron diferencias significativas en el consumo de la proteína entre las dietas HK7% y HS10%, a favor de la segunda.

En la evaluación nutrimental de los alimentos acuícolas, la eficiencia de utilización del alimento esta directamente relacionada con el factor de conversión del alimento a unidades de peso corporal en los camarones, razones por las cuales el factor de conversión alimenticia (FCA), es una variable económica y de calidad del alimento muy importante. Los valores reportados hasta ahora para juveniles de *L. vannamei* alimentados con dietas con 2 y 4% de inclusión de kelp y sargazo varían de 1.5 a 2 en camarones de 160 - 450 mg de peso inicial, en períodos de estudio de durante 28 días (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a; Casas-Valdez *et al.*, 2002). Resultados similares fueron obtenidos en el presente trabajo para el FCA (1.6 a 2.1). El FCA obtenido en la dieta HK7% fue inferior al de la dieta HS10%, esto se debe, a que esta dieta registró un bajo consumo de alimento (151 mg/camarón/día) significativamente inferior a la dieta mencionada, con una respuesta favorable en el crecimiento.

La eficiencia proteica (EP) ha sido descrita como un buen criterio para evaluar el aprovechamiento de la proteína de los alimentos utilizados en la acuicultura. Mazid *et al.* (1997) reportan que la calidad y el consumo de la proteína afectan los valores de la EP. Los valores de EP encontrados en este estudio variaron de 1.4 a 1.9. Estos resultados son similares a los reportados por Cruz-Suárez *et al.* (2000a) ya que al evaluar alimentos con inclusión del 2 y 4% de harina de kelp encontraron valores de 1.7 a 1.8 en juveniles de *L. vannamei* (con pesos de 0.45 a 2.6 g camarón⁻¹). No se presentaron diferencias significativas entre las dietas con 1, 4, 7 y 10% de kelp o sargazo, respecto a la dieta Control, este comportamiento puede atribuirse a que la calidad nutrimental de las dietas (en el contenido de aminoácidos esenciales) no se afectó considerablemente por la inclusión de las algas, aún a niveles del 10% respecto al Control. El 10% de inclusión de kelp aportó 1.3% de proteína a la dieta y sargazo al 10% aportó un 0.5%. La diferencia significativa encontrada en la EP entre las dietas HK7% y HS10%, se puede atribuir a que en la dieta HS10% hubo un mayor consumo de proteína, por qué hubo un mayor consumo de alimento, aunque

que tal vez no fue aprovechada al 100%, ya que una vez que se cubren los requerimientos en energía y proteína del organismo, el excedente ya no se destina a crecimiento, sino que es desaminada y desechada como lo reporta Claybrook (1983).

El análisis de varianza de dos vías del peso final de juveniles de *L. vannamei*, mostró que el nivel de inclusión del 10% provocó un efecto benefico y significativo sobre el peso final de los camarones, con respecto a la dieta Control. El tipo de alga no presentó un efecto marcado sobre el crecimiento ponderal y tampoco hubo una interacción significativa entre el nivel de inclusión y el tipo de alga, lo que implica que tanto sargazo como kelp pueden ser empleados como ingredientes indistintamente en el alimento para juveniles de camarón, pero que no mejoraron el crecimiento a bajos niveles de inclusión de 1, 4 y 7% como fue planteado en la primera hipótesis de este trabajo. Sin embargo, al 10% de inclusión sí hubo una mejoría en el crecimiento. Esto probablemente se deba a que el 10% de inclusión de kelp y sargazo produjo un efecto fagoestimulante en el consumo del alimento y por ende de aminoácidos esenciales para la construcción de tejidos y de otros elementos como los carbohidratos que son esenciales en el proceso de la muda (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a; Cuzon *et al.*, 2000; Casas-Valdez *et al.*, 2002).

Estos resultados demuestran que es factible el uso de las harinas de kelp y sargazo en la fabricación de alimentos balanceados para juveniles de *L. vannamei*, ya que no tienen un efecto negativo en el crecimiento en niveles de inclusión de 1 a 7%, y se presenta un incremento con el 10% de inclusión.

8.2. Experimento 2. Efecto de la inclusión de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum* spp., en el alimento sobre la digestibilidad *in vivo* en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

8.2.1. Digestibilidad *in vivo* de los ingredientes.

En la camaronicultura, uno de los grandes retos es la optimización del alimento suministrado (Akiyama & Dominy, 1991; Suresh, 2006). La calidad de estos alimentos está determinada por el tipo, calidad, composición y digestibilidad de los ingredientes que se utilicen para la fabricación de los mismos, ya que pueden influir en la atractabilidad, palatabilidad y disponibilidad de nutrimentos (Campabadal & Celis, 1999).

Los organismos digieren de manera diferente los ingredientes presentes en el alimento y estas diferencias se hacen más evidentes cuando estos no presentan la misma composición química (Brunson *et al.*, 1997). La digestibilidad aparente de materia seca y proteína de sargazo fue estadísticamente superior a la de kelp. Estas diferencias, pueden atribuirse: a) a un aumento “calculado” (Anexo 2B) de los alginatos en el alimento, ya que la dieta (HK15%) con inclusión de la harina de kelp registró un contenido de alginatos de 5.8% en comparación con la dieta (HS15%) con harina de sargazo, que registró un valor de 4.1%, al respecto Storebakken & Austreng (1987) mencionan que niveles de inclusión de alginatos mayores a 5% en el alimento disminuyen la absorción de metales esenciales como hierro o calcio por parte de los crustáceos; b) a que los mayores contenidos de alginato influyeron negativamente en el aprovechamiento de la proteína, como lo mencionan Fountoulaki *et al.* (2005) quienes encontraron que la capacidad digestiva de los organismos depende del nivel de enzimas digestivas y la capacidad de éstas de entrar en contacto con los alimentos, y que cuando hay una interferencia en esta vía, el aprovechamiento de los nutrimentos se ve afectado, sin embargo, es necesario realizar estudios de digestibilidad *in vitro* con las enzimas del camarón para confirmar este supuesto. Actualmente, no se han reportado en la literatura valores de

digestibilidad aparente para las harinas de kelp y sargazo. Los resultados de este trabajo, en nuestro conocimiento, son los primeros datos que se generan al respecto.

Roy & Be-Miller (1959) mencionan que la cantidad de alginato que se disolverá en agua está limitada por la naturaleza física de las soluciones, más que por la solubilidad del compuesto en sí, al incrementarse la concentración de alginato, la solución pasa de un estado de líquido viscoso a una pasta espesa, punto en el cual se vuelve muy difícil de dispersar el alginato, afectando la disponibilidad y aprovechamiento de algunos nutrimentos. Aspecto interesante debido a que la harina de sargazo tiene un valor inferior en el contenido de alginato alrededor de 14%, con respecto a kelp que contiene 25% (Casas-Valdez *et al.* 2002).

Es importante estudiar la digestibilidad aparente de los carbohidratos, ya que estos son utilizados como fuente de energía y ayudan a soportar el crecimiento de los camarones (Shiau, 1998). Sin embargo los camarones tienen una capacidad limitada para metabolizar los carbohidratos complejos y la quitina (Lee & Lawrence, 1997; Rosas *et al.*, 2001). Los coeficientes de digestibilidad aparente de los carbohidratos de las harinas de kelp y sargazo fueron de 86 y 107% lo que muestra que los carbohidratos de ambas algas son bien utilizados por el camarón, particularmente los de sargazo. El hecho de haber encontrado un valor de digestibilidad superior al 100%, puede deberse a que se presentó una interacción entre los nutrimentos de los ingredientes. También puede ser por acumulación de pequeñas desviaciones en los análisis químicos de nutrientes y óxido crómico en los alimentos y en las heces, así como a la falta de aditividad de la digestibilidad aparente de los ingredientes (Bureau *et al.*, 1999).

Los lípidos son el segundo nutrimento, después de las proteínas, que son utilizados como fuente de energía (Shiau, 1998). Pueden ser utilizados inmediatamente o almacenados en el hepatopáncreas y otros tejidos como fuente de reserva para su posterior uso en eventos como la muda (formación del nuevo exoesqueleto) y como constituyentes de los nuevos tejidos (Teshima & Kanazawa, 1976). Los coeficientes

de digestibilidad aparente de los lípidos de las harinas de kelp y sargazo fueron de 79 y 81%, sin que se detectaran diferencias significativas ($p > 0.05$). Esto seguramente se debe a que hubo muy poco aporte de lípidos de las algas a la composición final del alimento. La inclusión del 15% de kelp o sargazo aportaron $0.1 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ a la composición de lípidos de cada dieta.

Los valores de la proteína digestible (PD), y energía digestible (ED) y la razón PD/ED de las harinas de kelp y sargazo fueron similares. Esto puede ser explicado tanto por el contenido de proteína de ambos ingredientes (kelp = 12.6% y sargazo = 5.3%) como por su digestibilidad aparente, ya que a pesar de que se tuvo un mayor coeficiente de digestibilidad aparente de proteína en sargazo que en kelp (70% vs 24%), se logró un equilibrio, por que el contenido en proteína es más alto en kelp.

Los resultados obtenidos en la digestibilidad de los alimentos, y de las harinas de kelp y sargazo, aportan elementos que permiten rechazar la segunda hipótesis de trabajo, en el sentido de que la inclusión del 4 y 10% de las harinas de kelp y sargazo no incrementaron significativamente la digestibilidad aparente de los nutrimentos en el alimento con respecto al Control.

8.2.2. Digestibilidad *in vivo* de los alimentos.

La digestibilidad *in vivo* es una forma de medir el aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con que éste es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición del organismo. Comprende dos procesos, la digestión, que corresponde a la hidrólisis de los alimentos, y la absorción de las moléculas de los alimentos como los aminoácidos, ácidos grasos, etc. (Choubert *et al.*, 1979).

La digestibilidad *in vivo* de los alimentos puede ser afectada por la presencia de compuestos inhibidores, como los factores antinutricionales (Lee & Lawrence, 1997), en este sentido, como ya ha sido demostrado por Casas-Valdez *et al.* (2002) y Cruz-Suárez *et al.* (2000a), las harinas de kelp y sargazo no presentan saponinas,

hamaglutininas, glucósidos cianogénicos, la presencia de alcaloides es moderada y la contribución del ácido tánico es baja, en el caso de sargazo ($1.7 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), por lo que se consideran ingredientes inocuos para la alimentación de organismos acuáticos.

La digestibilidad aparente de materia seca (DAMS) y la digestibilidad aparente de proteína (DAP) son dos parámetros indicativos de la cantidad de materia seca y proteína del alimento que son digeridos y absorbidos por los animales (Brunson *et al.*, 1997). La DAMS y DAP de las dietas experimentales con kelp disminuyó significativamente al pasar del 4 al 10% de inclusión. Estas diferencias pueden ser explicadas, por el menor grado de DAMS y DAP de la harina de kelp (aprox. 40%) con respecto a la de sargazo, que pudo disminuir el aprovechamiento de la materia seca y proteína de las dietas, también por el aporte de los alginatos de las algas. Cruz-Suárez *et al.* (2000a) demostraron que conforme disminuye el contenido de alginato en los alimentos aumenta la digestibilidad aparente de la materia seca y proteína. Estos autores reportan que el 1% de inclusión de alginatos en el alimento permite obtener valores mayores a 80% y que con el 3% de inclusión se obtienen valores menores en la digestibilidad aparente de la materia seca y proteína.

Los valores de DAP obtenidos con la dietas HK4%, HS4% y HS10% no fueron estadísticamente diferentes a la dieta Control, probablemente, por que no se incremento de manera importante el perfil de aminoácidos en el alimento, ya que se evaluaron dietas isoprotéicas, donde la contribución de las algas fue poca.

Forster y Gabbott (1971) reportan que los minerales (cenizas) presentes en el alimento pueden ser parcialmente solubilizados y aprovechados por los camarones. Hay evidencias de que alimentos balanceados (38% proteína y 8% lípidos) y suministrados a juveniles de *L. vannamei* (6 - 9 g) con un contenido en cenizas de 10% (de origen animal) permiten valores de digestibilidad aparente superiores al 80% en la proteína, los lípidos y los carbohidratos (Galicia-González, 2003). En nuestro caso, la dieta HS10% también presentó valores superiores al 80% en los coeficientes

mencionados, siendo que contiene más cenizas (12.6%) que la dieta HK10% (10.5%) por lo que aparentemente el contenido de cenizas no fue la causa de la diferencia en los valores de digestibilidad, es más probable que el alto contenido de alginato de la dieta HK10% sea el responsable de dicho fenómeno. Las harinas de kelp y sargazo tienen altos contenidos de cenizas (21 y 40%, en el orden que se mencionan). Chun & Sun (1993) explican que altos contenidos de cenizas en el alimento pueden actuar como activadores de proteasas digestivas y en un incremento en la actividad de proteasas. Este alto contenido de cenizas en la dieta, pudiera estar influyendo en el incremento en la digestibilidad aparente de las proteínas, aspecto que probablemente pueda explicar por qué con la dieta HS10% se obtuvieron mayores incrementos en la DAP. Sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales, donde se determine la actividad de proteasas alcalinas en el hepatopáncreas de *L. vannamei*, para confirmar o rechazar estos supuestos. Galicia-González (2003) realizó un bioensayo con camarones juveniles de *L. vannamei* durante 30 días con un peso promedio de 0.35 g, y encontró incrementos en la actividad proteolítica alcalina en el hepatopáncreas de los camarones que consumieron alimentos con 3, 6, y 9% de inclusión de un hidrolizado de langostilla, que tuvieron un contenido en cenizas de 7.7, 8.4 y 9% con respecto al Control, que contenía 7.1%.

Altos valores de fibra cruda en los alimentos (8-9%) pueden tener un efecto negativo sobre el aprovechamiento de los nutrimentos del alimento, reduciéndose la utilización de la proteína principalmente (Lim *et al.*, 1997). Estos autores obtuvieron una disminución en la eficiencia proteica de 43 a 21.8% en los alimentos, al incluir 15, 30 y 45% de canola alta en fibra, donde los alimentos tuvieron un valor promedio de 9% de FC y fueron suministrados a juveniles de *L. vannamei* (0.78 g) durante 56 días. Los valores de fibra que se obtuvieron en el análisis químico proximal de nuestras dietas experimentales fueron entre 0.6 y 2.1% situándose como aceptables para *L. vannamei*, por lo que no era de esperarse que afectaran negativamente en la digestibilidad aparente de los nutrimentos.

La digestibilidad de los carbohidratos (CBH) en los camarones varía de acuerdo al tipo de harina, origen y nivel de inclusión. Los CBH pueden ser almacenados en

forma de glicógeno en el hepatopáncreas y participar en la formación de glucosamina que se acumula en la epidermis, en preparación de la muda (Cuzon *et al.*, 2000). Las algas contienen aproximadamente un 40% de CBH en forma de carbohidratos complejos o ficocoloides (Cruz-Suárez *et al.*, 2002a). En este trabajo no se encontraron diferencias significativas en la digestibilidad aparente de los carbohidratos de las dietas utilizadas, probablemente por que la inclusión de kelp o sargazo no afectó el aprovechamiento de los carbohidratos presentes en el alimento. Ramos-Días *et al.* (2001) reportan valores de digestibilidad aparente de los carbohidratos de 85% al evaluar la harina de alga *Lessonia* sp. con juveniles de *L. vannamei* (8.8 g) alimentados durante 28 días. En el presente estudio, se manejaron valores de carbohidratos en las dietas de 48 a 52% y se obtuvieron valores de digestibilidad aparente de los carbohidratos de 86.5 a 90.5%, lo cual demuestra un buen aprovechamiento de los alimentos.

Conocer la digestibilidad de los lípidos es un factor importante, ya que son esenciales para la función metabólica del camarón y buenos valores de aprovechamiento de estos, permiten vislumbrar sí el aprovechamiento de las proteínas, se está destinando a la formación de tejidos (Tacon, 1989). Los valores de digestibilidad aparente de lípidos de todos los tratamientos fueron superiores al 79% y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Este comportamiento en los valores registrados probablemente se deba a que se evaluaron dietas isolipídicas, manteniendo la digestión y absorción de los lípidos casi similar entre las dietas. Además las algas no tienen un aporte importante de lípidos.

Desde el punto de vista nutricional, los resultados obtenidos de este trabajo demuestran que las harinas de kelp y sargazo pueden ser utilizadas con beneficios en el crecimiento, y que a ciertos niveles de inclusión no perjudican la digestibilidad de los nutrimentos en el alimento. Razones por las cuales se recomienda su uso en la fabricación de alimentos balanceados para juveniles de *L. vannamei*.

9. CONCLUSIONES

- 1) Los niveles de inclusión de las harinas de kelp y sargazo en el alimento tuvieron un efecto benéfico sobre el crecimiento en peso de los camarones, donde a mayor nivel de inclusión se obtuvo un mejor crecimiento, particularmente con el nivel de 10%, que fue significativamente diferente de la dieta Control.
- 2) No se encontraron diferencias claras en el consumo del alimento, el factor de conversión alimenticia y la eficiencia proteica entre las dietas que contenían las algas al 1, 4, 7 y 10%, por lo que se rechaza la primera hipótesis planteada en este trabajo.
- 3) La digestibilidad aparente de materia seca y proteína de la harina de kelp fue significativamente menor a la de sargazo.
- 4) El nivel de inclusión de las harinas de kelp y sargazo tuvo efectos distintos sobre la digestibilidad de los alimentos. La inclusión de la harina de sargazo a niveles de 4 y 10% no afectó la digestibilidad de la materia seca y los nutrimentos, mientras que la inclusión de kelp al 10% provocó una disminución significativa de la digestibilidad de materia seca y proteína. No obstante, esta disminución en la digestibilidad no repercutió de manera negativa en el crecimiento de los camarones.
- 5) Las diferencias en el aprovechamiento de la materia seca y proteína entre las harinas de kelp y sargazo se pueden atribuir a sus diferentes contenidos de alginato, fibra cruda y cenizas, pero se requieren más estudios para confirmarlo.
- 6) La segunda hipótesis de este trabajo se rechaza, ya que no se obtuvo un aumento en la digestibilidad por la inclusión de las algas al 4 y 10% en el alimento para juveniles de *L. vannamei*.

7) Los resultados de esta investigación demuestran que es factible el uso de las harinas de kelp y sargazo en la fabricación de alimentos balanceados para juveniles de *L. vannamei*, ya que no tienen un efecto negativo en el crecimiento en niveles de inclusión de 1 a 7%, y se presenta un incremento con el 10% de inclusión.

10. RECOMENDACIONES

Para la realización de nuevos trabajos se recomienda que tomen en cuenta lo siguiente:

- 1) Determinar el contenido, tipo y fuerza de gel del alginato presente en las harinas de kelp y sargazo y en los alimentos, aspectos que serán muy útiles para relacionar el contenido de alginatos de los alimentos con los coeficientes de digestibilidad aparente de los nutrimentos (materia seca, proteínas, carbohidratos y lípidos).
- 2) Realizar un estudio de la capacidad aglutinante y la hidratación de los pelets en agua para cada nivel de inclusión de kelp y sargazo. Relacionar estos datos con el contenido de alginatos en los alimentos, hacer una comparación con otras variables, como la textura, estabilidad y pérdida de nutrimentos.
- 3) Analizar la composición química corporal de los camarones, para determinar posibles variaciones en los nutrimentos en los tejidos para cada una de las dietas y poder relacionar el consumo del alimento con la deposición de los nutrimentos en los tejidos.
- 4) Evaluar el potencial de consumo del alimento en granjas comerciales con cultivos semi-intensivos de camarón y los efectos sobre la calidad del agua y sedimentos por el uso de alimentos con inclusión de kelp y sargazo.
- 5) Determinar por medio de un modelo económico la relación costo-beneficio del uso de kelp y sargazo en la fabricación de alimentos comerciales para camarón.
- 6) Determinar la digestibilidad *in vitro* de los alimentos utilizados y de los ingredientes para comprobar si existen diferencias entre kelp y sargazo.
- 7) Evaluar la actividad enzimática digestiva de los camarones en (proteasas, tripsina y quimiotripsina) entre las diferentes dietas experimentales.

11. BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. 1995. (Association of Official Analytical Chemist). *Official methods of analysis*. 18th edition. Publisher by AOAC Internacional Arlington. USA. 935 p.
- Ahmad, F.B. & H. Raji. 1990. Studies on agar from red seaweed. 535-540. *En: Gums and stabilisers for the food industry 5*. (Eds.) Phillips, G.O. & O.J. Wedlock. IRL Press. Nueva York. 656 p.
- Akiyama, D.M., G. Warren, W. Dominy & A.L. Lawrence. 1993. Nutrición de camarones peneidos para la industria de alimentos comerciales. 43-80 p. *En: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D. & Mendoza-Alfaro, R. (Eds.) Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura*. Monterrey, Nuevo León, México.
- Bello, J. 1995. Los alimentos funcionales o nutraceuticos. Nueva gama de productos en la industria alimentaria. *Alimentaria*, 265:25-29.
- Bendschneider, K. & R. Robinson. 1952. Determination of nitrites. 77-80. *En: Strickland J.D. & T.R. Parson (Eds.) A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada. Bulletin 167 Second edition. Ottawa. 310 p.*
- Brown, P.B., E.H. Robinson & A.E. Clark. 1989. Apparent digestible energy coefficients and associative effects in practical diets for red swamp crayfish. *Journal of The World Aquaculture Society*, 20:122-126.
- Brown, P., E. Robinson, A. Clark & A.L. Lawrence. 1989. Apparent digestible energy coefficients and associative effects in partial diets for rid swamp crayfish. *Journal of The World Acuaculture Society*, 20(3):122-126.

- Brunson, J.F., Romaine, R.P. & R.C. Reigh. 1997. Apparent digestibility of selected ingredients in diets for white shrimp *Penaeus setiferus*. *Aquaculture Nutrition*, 3:9-16.
- Bureau, D.P., A.M. Harris & C.Y. Cho. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 180:345-358.
- Campabadal, C. & Celis, A. 1999. Factores que afectan la calidad de los alimentos acuícolas. 523-540. *En: Cruz Suárez, L.E., D. Ricque Marie & R. Mendoza. (Eds.) Memorias del 3er. Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 11-13 noviembre. Monterrey, N.L. 1996. 458 p.*
- Carr, W.E.S. & C.D. Derby 1986. Chemically stimulated feeding behaviour in marine animals. *Journal of Chemical Ecology*, 12:989-1001.
- Carrillo, O., F. Vega-Villasante, H. Nolasco & N. Gallardo. 2000. Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón. 90-101. *En: Cruz -Suárez, L. E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, A. Olvera-Novoa & R. Civera-Cerecedo. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán. 380 p.*
- Casas-Valdez, M., I. Sánchez-Rodríguez & G. Carmona-Hernández. 1993. Evaluación de *Sargassum* spp., en la costa oeste de Bahía Concepción, B.C.S., México. *Investigaciones Marinas. CICIMAR*, 8:61-83.
- Casas-Valdez, M., C.J. Hernández-Guerrero, R.N. Aguilar-Ramírez, B. González-Acosta, A. Marín-Alvarez & S. Rodríguez-Astudillo. 2002. *Sargassum* spp., como fuente potencial de alimento para camarón. *Informe Final de Proyectos de Investigación 2001-2002. CICIMAR. CGPI. La Paz, B.C.S., México. 41 p.*

- Castro González, M.I., S. Carrillo, F. Pérez Gil, R. Manzano & E. Rosales. 1991. *Macrocystis pyrifera*: Potential resource for animal feeding. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 25(1):77-81.
- Chamberlain, G.W. 1995. *Frontiers in shrimp nutrition research*. 108-117. En: Browdy, C.L. & J.S. Hopkins (Eds.) *Swimming through troubled water*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge Louisiana, USA. 253 p.
- Cho, C.Y. & S.J. Slinger. 1979. *Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout*. 239-247. En: Proc. World Symposium on finfish nutrition and fish feed technology. Vol. 2. Halver, J. E. & K. Tiews. (Eds.) Berlín. Heenemann Germany.
- Choubert, G., J. de la Noüe & P. Luquet. 1979. Continuous quantitative automatic collector for fish feces. *The Progressive Fish Culturist*, 41:64-67.
- Chun, C.L. & P.B. Sun. 1993. *In vitro* digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 109:59-70.
- Civera-Cerecedo, R. & J.C. Guillaume. 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralisation of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. *Aquaculture*, 77:145-156.
- Claybrook, D. L. 1983. *Nitrogen metabolism*. En: Mantel, L.H. (Ed.) *The Biology of Crustacea. Internal Anatomy and Physiological Regulation*. Vol. 5. Academic Press, New York, 163-213 p.

- Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar & C. Guajardo-Barbosa. 2000a. Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. 227-265. *En: Cruz -Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.A. Olvera-Novoa & R. Civera-Cerecedo. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán. 380 p.*
- Cruz-Suárez, L.E., J.S. Antimo-Pérez, N. Luna-Mendoza, M. Tapia-Salazar, C. Guajardo-Barbosa & D. Ricque-Marie. 2000b. Relaciones proteína/energía y proteína vegetal/animal óptimas en alimentos de engorda para *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*. 141-160. *En: Cruz -Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. A. Olvera-Novoa & R. Civera-Cerecedo (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán. 380 p.*
- Cuzon, G., C. Rosas, G. Gaxiola, G. Tabeada & A. Van-Wormhoudt. 2000. Utilization of carbohydrates by shrimp. 328-339. *En: Cruz -Suárez, L. E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. A. Olvera-Novoa & R. Civera-Cerecedo. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán. 380 p.*
- Davis, D.A. & C.R. Arnold, 2000. Evaluation of five carbohydrate sources for *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 114:285-292.
- Dreywood, R. 1946. Qualitative test for carbohydrate material. *Industrial & Engineering Chemistry (Analytical Edition)*, 18:499-505.
- Edin, H. 1918. *Orienterande försök över användbarheten av en på "ledkroppsprincipen" grundad metod att bestämma en foderblandnings smältbarhet*. Centralanstalten för försöksväsendet på jorbruksområdet. *Stockholm Meddical*, 165:1-28.

- Ezquerria-Brauer, J.M., F.L. García-Carreño & O. Carrillo-Farnes. 1997. *In Vitro* digestibility of dietary protein sources for white shrimp *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 163:123-136.
- Folch-Lees, J. & G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226:497-509.
- Forster, J.R.M. & P.A. Gabbott. 1971. The assimilation of nutrients from compounded diets by the prawn *Palaemon serratus* and *Pandalus platycerus*. *Journal of the Marine Biological Association*, 51:943-961.
- Fountoulaki, E., M N. Alexis, I. Nengas & B. Venos. 2005. Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Spaurus aurata* L.). *Aquaculture Research*, 36:1243-1251.
- Furukawa, A. & H. Tsukahara. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 32 (6):502-506.
- Galicia-González, A. 2003. *Utilización de hidrolizado de langostilla (Pleuroncodes planipes) como aditivo en alimentos para juveniles del camarón Litopenaeus vannamei*. Tesis de maestría en ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, Baja California Sur. México. 131 p.
- Gamboa-Delgado, J. 2001. *Estudio de la actividad de las enzimas digestivas de Litopenaeus vannamei en función del tamaño corporal y la preferencia alimenticia*. Tesis de maestría en ciencias. Escuela Superior Politecnica del Litoral. Guayaquil Ecuador. 48 p.

- Guillaume, J. & C. Ceccaldi. 1999. Physiologie et alimentation des poissons et crustacés. 297-312. En: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot & R. Métailler (Eds.) *Nutrition et alimentation des poissons et crustacés*. IFREMER. Paris, France. 489 p.
- Gutiérrez-Leyva, R. 2003. *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, Baja California Sur. México. 156 p.
- Heinen, J.M. 1980. Chemoreception in decapod crustacea and chemical feeding stimulants as potential feed additives. *Proceedings of the world Mariculture Society*, 11:319-334.
- Hemre, G.I., Ø. Karlsen, A. Mangor Jensen & G. Rosenlund. 2003. Digestibility of dry matter, protein, starch and lipid by cod, *Gadus morhua*: comparison of sampling methods. *Aquaculture*, 225:225-232.
- Herber, S.M. & M.E. Van Elswyk. 1996. Dietary marine algae promote efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Journal Poultry Science*, 75(12):1501-1507.
- Hernández, C.G., M. Casas Valdez, L.C. Fajardo, I. Sánchez Rogríquez & M.E. Rodríguez. 1990. Evaluación de *Sargassum* spp., en la Bahía de La Paz, Baja California Sur. México. *Investigaciones Marinas. CICIMAR*, 5 (1):11-18.
- Hernández-Carmona, G., V.E. Rodríguez-Montesinos, M. Casas-Valdez, M.A. Vilchis & I. Sánchez-Rodríguez. 1991. Evaluación de los mantos de *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta, Laminariales) en la península de Baja California, México. III. Verano de 1986 y variación estacional. La Paz, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*, 17(4):121-145.

- Imeson, A. 1990. Applications of alginates. 553-562. *En: Gums and stabilisers for the food industry* 5. Phillips, G.O. & O.J. Wedlock. (Eds.) IRL Press. Nueva York. 656 p.
- Kitayabashi, K., H. Kurata, H. Shudo, K. Nakamura & S. Isikawa. 1971. Studies of formula feed for kuruma prawn I: on the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. *Bulletin of Takai Regional Fisheries Research Laboratory*, 65:91-107.
- Kureshy, N. & A.D. Davis. 2002. Protein requirements for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 204:125-143.
- Lawrence, A.L. 1985. 327-336. *En: Marine shrimp culture in the western hemisphere*. Second Australian National Prawn Seminar. Queensland Australia. 388 p.
- Lawrence, J.M., S. Olave, R. Otaiza, A.L. Lawrence & E. Bustos. 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile feed extruded feeds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(1):91-96.
- Lee, P. & A. Lawrence. 1997. Digestibility. 194-260. *En: Crustacean Nutrition*. Abramo, L. (Ed.) World Aquaculture Society, Louisiana. 587 p.
- Lim, C., R.M. Beames, J.G. Eales, A.F. Prendergast, J.M. Mcleese, K.D. Shearer & D.A. Higgs. 1997. Nutritive values of low and high fibre canola meals for shrimp *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Nutrition*, 3:269-279.
- Manzano, M.R. & G.E. Rosales. 1989. *Aprovechamiento de las algas marinas Macrocystis pyrifera y Sargassum sinicola en la alimentación humana y animal*. Tesis Profesional. Facultad de Química. Universidad La Salle. México, D. F. 106 p.

- Martínez-Cordova, L.R., A. Campaña-torres & M.A. Porchas-Cornejo. 2003. Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in microcosms. *Aquaculture Nutrition*, 9:155-160.
- Mendoza, R., J. Montemayor, & C. Aguilera. 1996. Quimioatracción en crustáceos: papel de moléculas homólogas. 1-35. En: Cruz Suárez, L.E., D. Ricque Marie & R. Mendoza. (Eds.) *Memorias del 3er. Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 11-13 noviembre. Monterrey, N.L. 1996. 458 p.
- Morris A.W. & Riley J.P. 1963. Determination of nitrate. 71-76. En: Strickland J. D. & T.R. Parson (Eds.) *A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada*. (1972). Bulletin 167 Second edition. Ottawa. 310 p.
- Obaldo, L.G., S. Divakaran & G.A. Tacon. 2002. Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. *Aquaculture Research*, 33:369-377.
- Pacheco, R.I.J., G.A. Zertuche, B. Chee & B.R. Blanco. 1998. Distribution and quantification of *Sargassum* beds along the west coast of the Gulf California, México. *Botánica Marina*, 41:203-208.
- Ramos-Díaz, R., I. Miranda-Valdés & C. Molina-Segovia. 2001. Consumo y digestibilidad aparente de tres ingredientes marinos locales incorporados en dietas prácticas para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931). *Estudios Oceanológicos*, 20:43-50.
- Rivas-Vega, M.E. 2006. *Valor nutricional del frijol yorimón (Vigna unguiculata L. Walp.) para camarón blanco del Pacífico (Litopenaeus vannamei)*. Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. S. C. La Paz, Baja California Sur., México. 111 p.

- Rivera, G., F. Yoong, G. Riofrío, B. Reinoso, F. Hurtado & P. Massuh. 2002. Inclusión de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos balanceados para el camarón. Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. CIVA. <http://www.civa2002.org>, 244-252.
- Rodríguez-Montesinos, Y. F. & G. Hernández-Carmona, 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. *Ciencias Marinas*, 17(3):91-107.
- Rosas, C., G. Cuzon, G. Tabeada, C. Pascual, G. Gaxiola & A. Van Wormhoudt. 2001. Effect of alimentary protein and level energy (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus setiferus* (Crustacea:Decapoda:Peneidae). *Aquaculture Research*, 31:200-210.
- Roy, L.W. & J.N. Be-Miller. 1959. "Industrial gums, polysaccharides and their derivatives". Academic Press. New York & London. 352 p.
- SAGARPA. 2003. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Anuario estadístico de pesca. México. <http://www.sagarpa.gob.mx/conapesca/planeacion/anuario/anuario2003.pdf>
- Shiau, 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, 101:241-250.
- Syed, Y.Y. & V. Suresh. 2002. Attractants: a necessary feed additive for compound aquafeeds. *Aqua Feed International*, 5(3):12-14.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman, New York. 887 p.
- Solórzano, L. 1969. Determination of ammonia. 87-90. En: Strickland J. D. & T. R. Parsons (Eds.) *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada. (1972). Bulletin 167. Second edition. Ottawa. 310 p.

- Stuart, M.D. & M.T. Brown. 1994. Growth and diet of cultivated black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). *Aquaculture*, 127(4):329-337.
- Storebakken, T. & E. Austreng. 1987. Binders in fish feeds. Effects of different alginates on the digestibility of macronutrients en rainbow trout. *Aquaculture*, 60:121-131.
- Sudaryano, A., M. J. Hoxey, S.G. Kailis & L.H. Evans. 1995. Investigation of alternative protein sources in practical diets for juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 134:313-323.
- Tacon, A.G. 1989. *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados*. Manual de capacitación FAO. Italia. 572 p.
- Teshima, S. & A. Kanazawa. 1976. Variation in lipids classes during the molting cycle of a shrimp. *Bulletin Japan Society Sciences Fisheries*, 42(10):1121-1135.
- Tierney, A. & J. Atema, 1988. Behavioral responses of crayfish (*Orconectes virilis* and *Orconectes rusticus*) to chemical feeding stimulants. *Journal of Chemical Ecology*, 14(1):123-132.
- Viana, M.T., M. Cervantes-Trujano & R. Solona-Sansores. 1994. Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Holiotis fulgens*): nine ingredients used in artificial diets. *Aquaculture*, 127(1):19-28.
- Wouters, R., P. Lavens, J. Nieto & P. Sorgeloos. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. *Aquaculture*, 202:1-21.completar
- Zar, J. H. 1984. *Bioestatistical analysis*. Segunda edición. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J. USA. 679 p.

12. ANEXOS

12.1. ANEXO 1.

Composición química proximal, de energía y perfil de aminoácidos de *Macrocystis pyrifera* (kelp) y *Sargassum* spp. (sargazo) reportados para algas de México.

Composición química proximal y de energía (% base húmeda).	Kelp ¹⁻²	Sargazo ³⁻³
Humedad	12 ¹ -8.4 ²	11.2 ³ -7.4 ²
Proteína	9.4 ¹ -12.6 ²	7.7 ³ -5.3 ²
Lípidos	0.8 ¹ -0.7 ²	1.9 ³ -0.7 ²
Ceniza	31 ¹ -21.3 ²	30.9 ³ -39.8 ²
Fibra	7.2 ¹ -9.3 ²	9.3 ³ -3.6 ²
Extracto libre nitrógeno	39.7 ¹ -56.1 ²	38.9 ³ -50.6 ²
Alginatos	25 ¹	14.6 ³
Energía (Kcal g ⁻¹)	3.08 ²	2.6 ³ -2.4 ²
Aminoácidos	g 100g ⁻¹ de proteína	g 100g ⁻¹ de proteína
Arginina	3.82 ¹	5.35 ³
Alanina	5.3 ¹	4.97 ³
Cisteína	3.15 ¹	0.80 ³
Fenilalanina	3.78 ¹	2.73 ³
Isoleucina	3.2 ¹	3.70 ³
Lisina	5.05 ¹	3.88 ³
Leucina	5.76 ¹	5.33 ³
Metionina	2.05 ¹	1.54 ³
Tirosina	2.68 ¹	2.97 ³
Treonina	4.78 ¹	2.95 ³
Valina	4.45 ¹	4.24 ³
Histidina	1.3 ¹	1.31 ³
Glicina	4.83 ¹	3.28 ³
Serina	4.94 ¹	2.82 ³
Ácido aspártico	8.30 ¹	6.07 ³
Ácido glutámico	9.75 ¹	10.23 ³
Taurina	0.86 ¹	

¹Análisis bromatológico proporcionado por la compañía Productos el Pacífico, reportado en (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a).

²Análisis bromatológico realizado por el Laboratorio de Análisis Químicos Proximales del CIBNOR, S.C.

³Análisis bromatológico proporcionado y reportado por (Casas-Valdez *et al.*, 2002).

12.4. ANEXO 2.

Valores de correlación (r) con la prueba de Spearman para los parámetros zootécnicos de evaluación en el bioensayo de crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con diferentes niveles de inclusión de harinas de kelp y sargazo durante 45 días.

Variables	AC	PF	PI	FCA	EP	CRD
AC		.732 $P = 0.000$	.997 $P = 0.000$	.602 $P = 0.001$	- .642 $P = 0.000$	.715 $P = 0.000$
PF	.732 $P = 0.000$		.734 $P = 0.000$	-.084 $P = 0.684$	.001 $P = 0.996$	.997 $P = 0.000$
PI	.997 $P = 0.000$	.734 $P = 0.000$		.602 $P = 0.001$	-.656 $P = 0.000$	.718 $P = 0.000$
FCA	.602 $P = 0.001$	-.084 $P = 0.684$	.602 $P = 0.001$		-.973 $P = 0.000$	-.102 $P = 0.620$
EP	-.642 $P = 0.000$	.001 $P = 0.996$	-.656 $P = 0.000$	-.973 $P = 0.000$		.015 $P = 0.942$
CRD	.715 $P = 0.000$	.997 $P = 0.000$	.718 $P = 0.000$	-.102 $P = 0.620$	.015 $P = 0.942$	

Valores promedio de tres réplicas. AC= alimento consumido (mg/camarón/día), PF= peso final (g), PI= proteína ingerida (mg/camarón/día), FCA= factor de conversión alimenticia, EP= eficiencia proteica y CRD= crecimiento relativo diario (%). P = significancia de la prueba.

12.7. ANEXO 3.

Cálculos para establecer diferencias significativas entre traslapes y elevaciones de nueve líneas de regresión por dieta, por medio de sus coeficientes de regresión (b). Cada línea correspondió a una dieta experimental utilizada en el bioensayo de crecimiento de *Litopenaeus vannamei*.

								Residual	Residual
		df	$\sum x^2$	$\sum xy$	$\sum y^2$	n	b	SS	DF
Regresión Control		8	7.73	38.47	1350.00	9	5.0	1158.626	7
Regresión HK1%		8	16.70	131.24	1350.00	9	7.9	318.992	7
Regresión HK4%		8	10.41	76.23	1350.00	9	7.3	791.920	7
Regresión HK7%		8	8.22	74.61	1350.00	9	9.1	672.519	7
Regresión HK10%		8	21.55	160.64	1350.00	9	7.5	152.457	7
Regresión HS1%		8	10.93	63.79	1350.00	9	5.8	977.797	7
Regresión HS4%		8	15.37	134.51	1350.00	9	8.8	172.788	7
Regresión HS7%		8	11.60	108.38	1350.00	9	9.3	337.799	7
Regresión HS10%		8	22.31	136.53	1350.00	9	6.1	514.464	7
	Pooled							5097.364	63
Regresión	Within	72	124.83	924.39	12150.00		7.41	5304.745	71
Regresión	Total	80	159.89	924.3943	12150.00	81		6805.67	79
Grupos		8	35.0575	0	0.00				7

1) Diferencias entre traslapes: $F = 0.3203863$ Desde $F_{0.05}(1, 8, 63) \approx 2.1$ (de tablas) Acepta H_0 con $P > 0.25$

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 \dots \beta_9$$

2) Diferencias entre elevaciones: $F = 2.5110949$ Desde $F_{0.05}(1, 8, 63) \approx 2.1$ (de tablas) Rechaza H_0 $P < 0.05$

H_0 : Las dos poblaciones de líneas de regresión tienen la misma elevación.

H_A : Las dos poblaciones de líneas de regresión NO tienen la misma elevación

12.2. ANEXO 4A.

Estabilidad y contenido de alginatos teóricos de las dietas utilizadas en el experimento de crecimiento.

	CONTROL	HS 1%	HS 4%	HS 7%	HS 10%	HK 1%	HK 4%	HK 7%	HK 10%
Estabilidad (%) ^{1,A}	86.3 ^{bc} ± 1.9	89.0 ^{ab} ± 0.9	86.6 ^{bc} ± 0.4	86.2 ^{bc} ± 1.8	85.6 ^c ± 0.8	87.2 ^{bc} ± 0.2	90.5 ^a ± 1.3	88.9 ^{ab} ± 0.6	87.1 ^b ± 1.0
Alginatos ²	2.0	2.1*	2.6*	3.0*	3.4*	2.3*	3.0*	3.8*	4.5*

¹Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar, expresados en g 100g⁻¹ de materia seca. HK1% dieta con inclusión del 1% de harina de kelp, HK4% dieta con inclusión del 4% de harina de kelp, HK7% dieta con inclusión del 7% de harina de kelp, HK10% dieta con inclusión del 10% de harina de kelp, HS1% dieta con inclusión del 1% de harina de sargazo, HS4% dieta con inclusión del 4% de harina de sargazo, HS7% dieta con inclusión del 7% de harina de sargazo y HS10% dieta con inclusión del 10% de harina de sargazo. ²Valores teóricos calculados de las tablas 5 y Anexo 1. ^ACálculo realizado con la fórmula de Obaldo *et al.* (2002). *Estos cálculos incluyen en forma aditiva el 2% de inclusión de ácido algínico + el aporte por el contenido de alginatos en el alga.

12.3. ANEXO 4B.

Composición en óxido crómico y alginatos de las dietas utilizadas en el experimento de digestibilidad *in vivo*.

	CONTROL	HK 4%	HS 4%	HK 10%	HS 10%	HK 15%	HS 15%
Óxido crómico ¹	1.04 ± 0.0	0.95 ± 0.0	0.83 ± 0.1	1.09 ± 0.0	1.03 ± 0.1	0.95 ± 0.1	0.69 ± 0.2
Alginatos ²	2.0	3.0*	2.6*	4.5*	3.4*	5.8*	4.1*

¹Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar, expresados en g 100g⁻¹ de materia seca. HK4% dieta con inclusión del 4% de harina de kelp, HK10% dieta con inclusión del 10% de harina de kelp, HK15% dieta con inclusión del 15% de kelp, HS4% dieta con inclusión del 4% de harina de sargazo, HS10% dieta con inclusión del 10% de harina de sargazo, HS15% dieta con inclusión del 15% de harina de sargazo.

²Valores teóricos calculados de las tablas 5 y Anexo 1. *Estos cálculos incluyen en forma aditiva el 2% de inclusión de ácido algínico + el aporte por el contenido de alginatos en el alga.

12.6. ANEXO 5.

Coeficientes de digestibilidad aparente (CUDa%) de materia seca, proteína, carbohidratos y lípidos de las dietas en las que se evaluó la digestibilidad de las harinas de kelp y sargazo al 15% de inclusión para juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

Dieta	Materia seca	Promedio ± d.e.	Proteína	Promedio ± d.e.	Carbohidratos	Promedio ± d.e.	Lípidos	Promedio ± d.e.
Control	70.44		81.87		89.03		83.77	
	69.66	69.6 ^a	81.96	81.4 ^a	88.67	87.8 ^b	83.77	83.8 ^a
	67.96	± 1.1	81.47	± 0.8	86.27	± 1.3	83.77	± 0.0
	70.12		80.22		87.29		83.77	
HK15%	62.31		74.61		88.01		81.79	
	65.84	63.5 ^b	73.38	74.2 ^b	85.08	86.9 ^b	84.40	83.1 ^a
	62.04	± 1.8	74.27	± 0.6	87.17	± 1.3	87.00	± 1.8
	63.90		74.49		87.29		87.00	
HS15%	68.71		81.07		90.83		86.81	
	70.29	70.6 ^a	80.13	80.2 ^a	89.48	90.5 ^a	86.81	83.4 ^a
	73.27	± 1.9	80.61	± 0.9	91.20	± 0.7	82.43	± 1.4
	70.23		79.02		90.47		84.38	

Los valores promedio de cuatro réplicas ± desviación estándar se presentan en la columna derecha de cada nutriente. HK15% diseñada para evaluar la digestibilidad de la harina de kelp. HS15% dieta diseñada para evaluar la digestibilidad de la harina de sargazo. Valores con diferente letra dentro de columnas indican diferencias significativas (p<0.05).