



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* DE ALIMENTOS
COMERCIALES Y EXPERIMENTALES PARA
CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*)
CULTIVADO A DIFERENTES SALINIDADES**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

Milena Gucic

La Paz, B.C.S. Agosto de 2008

COMITÉ TUTORIAL

Dr. Edilmar Cortés Jacinto

Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B.C.S.

Dr. Roberto Civera Cerecedo

Co-Tutor

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B.C.S.

Dr. Luis Martínez-Córdova

Co-Tutor

DICTUS, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora.

COMITÉ REVISOR

Dr. Edilmar Cortés Jacinto

Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B.C.S.

Dr. Roberto Civera Cerecedo

Co-Tutor

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B.C.S.

Dr. Luis Martínez-Córdova

Co-Tutor

Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), Hermosillo, Sonora.

MIEMBROS DEL JURADO DE DEFENSA DE TESIS

Dr. Edilmar Cortés Jacinto

Dr. Roberto Civera Cerecedo

Dr. Luis Martínez-Córdova (DICTUS)

Dr. Héctor Nolasco Soria (Suplente)

RESUMEN

El camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, es una de las especies que más se cultiva en el mundo, debido principalmente a su rápido crecimiento, buena supervivencia a alta densidad de cultivo, y capacidad de osmoregulación, que lo hacen una buena elección para su cultivo a diferentes salinidades. El conocimiento de los requerimientos nutricionales de los camarones en diferentes condiciones medioambientales y etapas de desarrollo para poder formular dietas que permitan un óptimo crecimiento es crítico, pero se desconoce la digestibilidad de la mayoría de las materias primas y el efecto que la salinidad pueda tener sobre la digestibilidad de los alimentos. En el presente trabajo, se determinó la digestibilidad de seis dietas comerciales para camarón fabricadas en México (D1, D2, D3, D4, D5 y D6), y dos dietas experimentales (UANL) y (DCIB) a diferentes salinidades. Juveniles (4 ± 0.5 g) de *L. vannamei* fueron cultivados en acuarios de 60 L a 5, 35 y 50 ‰, alimentados con dietas comerciales y experimentales. Los coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDA) *in vivo* de materia seca (DAMS), proteína (DAP), lípidos (DAL), carbohidratos (DACHO) y energía (DAE) fueron determinados. Los valores de DAMS mostraron diferencias significativas entre los alimentos comerciales y experimentales en cada salinidad. A 50 ‰, la menor DAMS correspondió a la dieta D5 (49.1%), mientras que la mayor se obtuvo con la dieta de referencia UANL (64.1%). La DAP fue diferente entre los alimentos comerciales y experimentales; los valores significativamente más bajos se presentaron a 5 ‰ y los valores más altos a 35 ‰. El alimento D2 presentó la mejor DAP para los diferentes niveles de salinidad. La DAL fue superior al 80%, con excepción de la dieta DCIB en el bioensayo de 50 ‰. La dieta D3 presentó los coeficientes de DAL más altos (90.1 y 90.6%) a las salinidades de 5 y 35 ‰. A la salinidad de 50 ‰, la dieta DCIB tuvo una DAL significativamente más baja que los alimentos UANL, D2, D3, D4 y D5. Se encontraron diferencias de DACHO entre los alimentos comerciales y experimentales en cada nivel de salinidad. Sin embargo, el efecto de la salinidad sobre la digestibilidad de carbohidratos no fue significativo. El alimento D4 tiene el valor más alto de DACHO (92.4%) a la

salinidad 5 ‰, mientras que la dieta UANL presenta valores de 97.3 y 94.7% a las salinidades de 35 y 50 ‰. Los CUDA de energía mostraron diferencias significativas entre los alimentos comerciales y experimentales dentro de cada nivel de salinidad. El análisis bifactorial indica que el factor salinidad tiene un efecto significativo sobre los CUDA de energía. El valor significativamente más bajo se presentó en el bioensayo a 50 ‰, 70.1% (D6) y el valor más alto, 86.4 %, tratamiento D4, en el bioensayo a 35 ‰. La salinidad, como un factor abiótico limitante para crustáceos, mostró un efecto significativo en la digestibilidad de materia seca, proteína y energía, obteniéndose los valores más elevados a la salinidad de 35 ‰. El análisis bifactorial mostró que la salinidad no tuvo un efecto significativo sobre la digestibilidad de carbohidratos y de lípidos, pero sí hubo una interacción significativa.

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, digestibilidad, salinidad.

ABSTRACT

Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* is one of the most commercially farmed species worldwide because of its fast growth, good survival rate at high farming densities and osmoregulatory capacity, which make it an excellent candidate for farming at different salinities. The knowledge of shrimp nutritional requirements is critical in the formulation of diets to allow optimal growth at different environmental conditions and development stages. The effect of salinity on apparent digestibility of most ingredients used in shrimp formulation is not well known. The present study evaluated the apparent digestibility of six commercial diets (D1, D2, D3, D4, D5 and D6,) and two experimental diets (UANL and CIB) for juvenile white shrimp cultivated in 60-L aquaria at three salinities (5, 35 and 50 ‰). Apparent digestibility coefficients (ADC) *in vivo* for dry matter (ADCDM), proteins (ADCP), lipids (ADCL), carbohydrates (ADCCH), and energy (ADCE) were determined. ADCDM results showed significant differences between commercial and experimental diets at every salinity level. At 50 ‰, the lowest ADCDM corresponded to diet D5 (49.1%) while the highest one was obtained with UANL reference diet (64.1%). ADCP showed differences between commercial and experimental diets; significantly lowest results were obtained at 5 gL⁻¹ and the highest ones at 35 ‰. For every level of salinity, D2 diet presented the best ADCP. ADCL values were above 80% with an exemption for CIB experimental diet at 50 ‰. D3 treatment presented the highest ADCL (90.1 and 90.6%) at 5 and 35 ‰ salinities. CIB diet had significantly lower ADCL than diets UANL, D2, D3, D4 and D5 at 50 ‰. For ADCCH, differences were detected between commercial and experimental diets at every salinity level, though salinity effect on ADCCH was not significant. D4 treatment had the highest ADCCH value (92.4%) at 5 ‰ salinity, while UANL values at 35 and 50 ‰ were 97.3 y 94.7%. ADC of energy showed significant differences between commercial and experimental diets at every salinity level. Two way ANOVA analyses indicate significant salinity factor effect. Significantly lower value (70.1%, D6) was obtained at 50 ‰, and the highest one (86.4%, D4) at 35 ‰. Salinity, as a limiting abiotical factor for crustaceans,

demonstrated a significant effect on apparent digestibility of dry matter, proteins and energy. The highest values were obtained at 35 ‰. Two way ANOVA analyses showed that salinity did not have a significant effect on apparent digestibility of carbohydrates and lipids but had a significant interaction.

Key words: *Litopenaeus vannamei*, digestibility, salinity.

DEDICATORIA

A mi padre quien dedicó su trabajo a la ciencia y su familia, enseñándome con amor que el respeto para la naturaleza es una de las más importantes cualidades.

A mi madre por su increíble energía, pasión y ayuda en los momentos más difíciles.

A mi hermano quien tiene talento, conocimiento y sensibilidad para cumplir todos sus sueños.

A mi Ita por su amistad, fuerza y amor enorme que me dio para llegar hasta aquí.

A ti quien vendrás pronto...

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la SECRETARÍA DE RELACIONES EXTERIORES, Dirección de Intercambio Académico, y el Departamento para Europa Oriental y America del Norte (beca num. 811.5/(6193)/137), por apoyo en la realización de estudios en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR).

Al CIBNOR, a los programas de acuicultura, posgrado e investigadores.

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo financiero de los proyectos SAGARPA-CONACYT 2003-C02-149, intitulado “Determinación de la digestibilidad de alimentos comerciales y de ingredientes utilizados en la formulación de alimentos balanceados para *Litopenaeus vannamei*” y al proyecto institucional AC1.5, “Digestibilidad *in vivo* de alimentos para camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)”.

A mi director de tesis, Dr. Edilmar Cortés-Jacinto, por todos sus consejos y la ayuda antes y durante de mis estudios en el CIBNOR para empezar y finalizar este trabajo.

A mis Co-directores Dr. Roberto Civera-Cerecedo y Dr. Luís Rafael Martínez Córdova por su apoyo, opiniones y enorme experiencia en el campo de la Nutrición Acuicola.

Al apoyo técnico de Sonia Rocha Meza, Dolores Rondero Astorga y Ernesto Goytortua, por los análisis químicos proximales y elaboración de las dietas sin cuyo conocimiento y asistencia no hubiese podido terminar mi trabajo.

A Oscar Armendáriz Ruíz, por su apoyo técnico en dibujos, Santiago Rodríguez Álvarez y Gerardo Rafael Hernández García, quienes brindaron su apoyo en diseño gráfico e impresión de tesis.

Agradezco mucho el apoyo y la ayuda de mis compañeros del laboratorio de Nutrición Acuícola, a Marissa, Ana-Luisa, Margarita, Alfonso y Ranfery por todos sus consejos y atención que me dieron.

A mis compañeros del posgrado Alejandro Rodríguez, y Laura Guzmán por su apoyo amable durante la redacción del presente manuscrito de tesis.

A mi amigo Raúl por su agradable amistad, gran apoyo y su energía dedicada a la ciencia.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Ubicación taxonómica del camarón blanco <i>L. vannamei</i> según Pérez y Kensley (1997).....	2
1.2 Rasgos biológicos.....	2
1.3 Fisiología de camarones según Randall et al. (1998).....	3
1.4 La osmoregulación en crustáceos decápodos.....	4
1.5 Ecología.....	6
1.6 Producción global del cultivo de camarón blanco, <i>L. vannamei</i>	7
1.7 Cultivo de camarón en México.....	9
1.8 Sistemas de cultivo de camarón según Álvarez et al. (2000).....	12
1.9 Investigación de nutrición y digestibilidad acuícola.....	13
2. ANTECEDENTES.....	17
2.1 Hidroestabilidad del alimento.....	17
2.2 Efecto de la salinidad en la digestibilidad.....	18
3. JUSTIFICACIÓN.....	20
4. HIPÓTESIS.....	21
5. OBJETIVO.....	22
5.1 Objetivo general.....	22
5.2 Objetivos particulares.....	22
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
6.1 Diseño experimental.....	23
6.2.1 Fabricación del alimento control experimental CIB.....	26
6.2.2 Reprocesamiento de los alimentos comerciales y el experimental UANL.....	29
6.3 Determinación de estabilidad en el agua de los alimentos.....	30
6.4.1 Sistema experimental de cultivo.....	30
6.4.2 Organismos experimentales.....	32
6.4.3 Condiciones de cultivo.....	32
6.4.5 Análisis químicos.....	35
6.4.6 Coeficientes de digestibilidad aparente <i>in vivo</i>	40
6.5 Análisis estadísticos y procesamiento de datos.....	41
7. RESULTADOS.....	42
7.1 Digestibilidad de materia seca, proteína, lípidos, carbohidratos y energía.....	46
8. DISCUSIÓN.....	57
9. CONCLUSIONES.....	64
10. PERSPECTIVAS.....	65
11. REFERENCIAS.....	66
12. ANEXO.....	79

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Camarón blanco del Pacífico, <i>Litopenaeus vannamei</i>	1
Figura 2. Ciclo de vida del camarón de la Familia Penaeidae (Martínez-Córdova <i>et al.</i> , 1999).....	6
Figura 3. Producción acuícola global de 2004-2006 del camarón blanco <i>L. vannamei</i> (FAO, 2008).....	9
Figura 4. Producción acuícola en peso y valor económico de <i>L. vannamei</i> en México (FAO, 2008).....	10
Figura 5. Áreas de cultivo de camarón marino y dulceacuícola en México	11
Figura 6. Mezclado de micro y macroingredientes.....	27
Figura 7. Extrusión en molino de carne.....	28
Figura 8. Sistema de cultivo para bioensayos de digestibilidad en el Laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR.....	31
Figura 9. Tubos con muestras de heces y la mezcla metanol:cloroformo:agua. B) Equipo utilizado en el método Bligh and Dyer (1959).....	38
Figura 10. Los tubos Tecator ^{MR} de 100 mL con el contenido de óxido crómico (Cr ₂ O ₃) en las muestras (método de Furukawa y Tsukahara, 1966).....	39
Figura 11. Hidroestabilidad de la materia seca de los alimentos experimentales y comerciales, después de una hora de inmersión en agua a salinidades de 5, 35 y 50 ‰. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	45
Figura 12. Coeficientes de utilización digestiva aparente de materia seca (DAMS) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	47
Figura 13. Coeficientes de utilización digestiva aparente de proteína (DAP) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	49
Figura 14. Coeficientes de utilización digestiva aparente de lípidos (DAL) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades. La letra A indica que no se detectaron diferencias significativas entre salinidades ($P = 0.2090$). Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	51
Figura 15. Coeficientes de utilización digestiva aparente de carbohidratos (DACHO) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades. La letra A indica que no se detectaron diferencias significativas entre salinidades ($P = 0.7330$). Superíndices	

diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P<0.05$).	53
Figura 16. Coeficientes de utilización digestiva aparente de energía (DAE) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P<0.05$).	55

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Composición en ingredientes (g/100 g de alimento) de los alimentos experimentales (CIB) y (UANL), utilizados para evaluar la digestibilidad <i>in vivo</i> en juveniles de <i>L. vannamei</i> .	24
Tabla II. Composición de la premezcla de vitaminas.	25
Tabla III. Composición de la premezcla de minerales.	25
Tabla IV. Valores de los parámetros fisicoquímicos de calidad de agua del agua utilizada en los bioensayos de digestibilidad <i>in vivo</i> a salinidades de 5, 35 y 50 ‰.	43
Tabla V. Composición proximal (g/100 g de materia seca \pm Desviación Estándar) y energía bruta de los alimentos usados en los bioensayos de digestibilidad en juveniles de camarón blanco <i>L. vannamei</i> .	44
Tabla VI. Hidroestabilidad de la materia seca ($\% \pm$ Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales después de una hora de inmersión en agua a diferentes salinidades.	46
Tabla VII. Coeficientes de utilización digestiva aparente ($\% \pm$ Desviación Estándar) de materia seca (DAMS) de los alimentos comerciales y experimentales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades.	48
Tabla VIII. Coeficientes de utilización digestiva aparente ($\% \pm$ Desviación Estándar) de proteína (DAP) de alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades.	50
Tabla IX. Coeficientes de utilización digestiva aparente de lípidos (DAL) ($\% \pm$ Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades.	52
Tabla X. Coeficientes de utilización digestiva aparente de carbohidratos (DACHO) ($\% \pm$ Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades.	54
Tabla XI. Coeficientes de utilización digestiva aparente de energía (DAE) ($\% \pm$ Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivados a diferentes salinidades.	56

GLOSARIO

- ❖ Acido algínico (alginato): polisacárido derivado de las algas marinas y utilizado como aglutinante en la elaboración de alimentos (Vega-Villasante y Chong, 2006).
- ❖ Alimento: Sustancia comestible consumida por los animales que aportan energía y/o nutrientes a su dieta. Se usa normalmente para referirse al consumo animal y no humano (AAFCO, 2000).
- ❖ Alimento balanceado: alimento formulado que contiene nutrientes en cantidades y proporciones que satisfacen necesidades fisiológicas de los animales, especificadas por autoridades reconocidas en nutrición animal (Vega-Villasante y Chong, 2006).
- ❖ Cenizas: materia inorgánica que es parte de los alimentos y de los ingredientes, residuo inorgánico de una muestra incinerada.
- ❖ Dieta: Ingredientes o mezcla de ingredientes alimentarios, incluyendo agua, que son consumidos por animales (AAFCO, 2000).
- ❖ Digestibilidad: la porción del alimento que es absorbida, menos los materiales que son eliminados del sistema digestivo en los procesos de ingestión, digestión y excreción.
- ❖ Energía: se refiere a todo aquello que es trabajo, produce trabajo o proviene de un trabajo (mecánica, química, eléctrica, luminosa, térmica). La unidad oficial es el Joule ($\text{kg/m}^2\text{s}^2$) aunque la caloría se sigue empleando de manera rutinaria ($1 \text{ cal} = 4.184 \text{ J}$, $1 \text{ J} = 0.239 \text{ cal}$).

- ❖ Estabilidad: propiedad del alimento para mantener en el agua su composición física y química durante un periodo de tiempo.
- ❖ Extracto etéreo: en los análisis bromatológicas de grasas, la cantidad de estas se miden después de la extracción solvente usando éter etílico anhidro (C₄H₁₀O) o éter de petróleo.
- ❖ Extrusión: proceso termoplástico para formar una masa de unos o varios ingredientes, alimentos, etc. haciéndola salir por una abertura especialmente dispuesta de diferentes tamaños. Es el proceso de cocción de un ingrediente o mezcla de ingredientes, por medio de alta presión y temperatura.
- ❖ Fibra cruda: las sustancias orgánicas formadas por glúcidos estructurales vegetales (como celulosa y hemicelulosa) y contienen algo de lignina que es muy poco digestible.
- ❖ *In vivo*: latín: (con) dentro de un organismo, experimentación hecha en un organismo vivo.
- ❖ Ingrediente: materia prima u otro compuesto de la fórmula de un alimento.
- ❖ Harina: ingrediente que ha sido molido o reducido a partículas no tamizado (AAFCO, 2000).
- ❖ Harina de pescado: Tejidos no descompuestos de pescado entero o partes de pescado, molidos, secos y limpios en donde se ha extraído o no parte del aceite. Si éste contiene más del 3% de sal, la cantidad de sal deberá constituir parte del nombre en la marca de fábrica o etiqueta, debe tenerse en cuenta que en ningún caso, la sal debe exceder del 7% (AAFCO, 2000).

- ❖ Harina de soya: Es un producto de cascarilla de soya y el desperdicio de las colas de la molienda las cuales resultan después de la manufactura del cascajo de soya o de la harina. No deberán contener menos de 13% de proteína cruda y no más de 32% de fibra cruda (AAFCO, 2000).
- ❖ Húmedo: Material conteniendo líquido, o que ha sido humedecido o remojado en agua u otro líquido.
- ❖ Lixiviación: proceso mediante en cual se disuelven los compuestos de una dieta artificial en agua.
- ❖ Materia seca: la materia sin humedad.
- ❖ Mezcla: Mezcla o combinación. Se refiere a los ingredientes de un alimento mezclado, no implica uniformidad de dispersión.
- ❖ Microingredientes: Vitaminas, minerales, medicinas y otras sustancias que normalmente se utilizan en pequeñas cantidades y se miden en miligramos (mg), microgramos (μg) o partes por millón (ppm) (AAFCO, 2000).
- ❖ Nutrición: incorpora los procesos químicos y fisiológicos que proporcionan nutrientes al animal para llevar a cabo sus funciones normales, para el mantenimiento y para el crecimiento.
- ❖ Óxido crómico: Cr_2O_3 , óxido de cromo, es un compuesto químico muy oxidante, color verde y tóxico. Se usa como marcador inerte indigerible (o muy poco digerible) en los estudios de digestibilidad. Nivel de inclusión en las dietas es 0.5-1%.
- ❖ Pasta: La masa que resulta de presionar semillas, carne o pescado, para extraer aceites, grasas u otros fluidos (Vega-Villsante y Chong, 2006).

- ❖ Pelets: Alimento en forma aglomerada, obtenido por la compactación y el forzado del paso del alimento mediante un proceso mecánico a través de las aberturas de un dado.
- ❖ Premezcla: Mezcla uniforme de uno o más microingredientes con un diluyente y/o un vehículo. Las premezclas son utilizadas para facilitar la dispersión uniforme de los microingredientes en una mezcla mayor (AAFCO, 2000).
- ❖ Tamizado: Separado en diferentes tamaños al pasar por y a través de mallas de diferente tamaño.
- ❖ Trigo: Es el producto completo obtenido por el molido o quebrado del grano de trigo limpio y sano.

1. INTRODUCCIÓN

Los camarones peneidos son crustáceos clasificados en el Orden decápoda (diez patas), son animales epibentónicos (que viven sobre la superficie del fondo), nadadores y filtradores en las primeras etapas de su vida, la natación la realizan a través de los apéndices natatorios (pleópodos) (Pérez y Kensley, 1997).

La primera reproducción artificial del camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Figura 1) se logró en Florida, Estados Unidos en 1973 a partir de nauplios procedentes de una hembra ovada silvestre capturada en Panamá. Tras los resultados positivos obtenidos en estanques y el descubrimiento de la ablación unilateral (y nutrición adecuada) para inducir a la maduración, en 1976 en Panamá, inició el cultivo comercial de este especie, posteriormente se extendió su cultivo en Centro y Sudamérica (Brigs *et al.*, 2004).

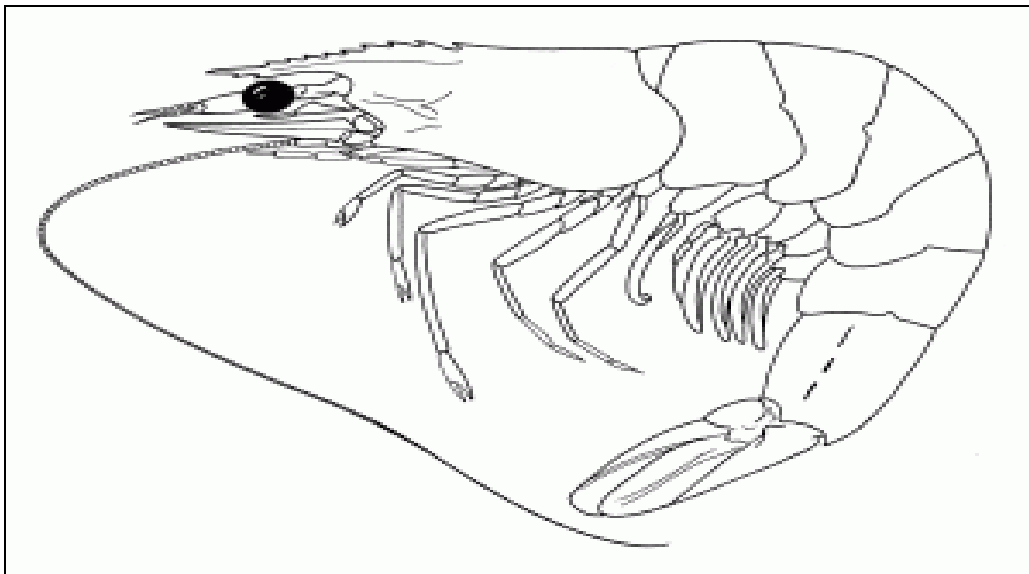


Figura 1. Camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*.

1.1 Ubicación taxonómica del camarón blanco *L. vannamei* según Pérez y Kensley (1997)

Reino: *Animalia*

Phylum: *Arthropoda*

Subphylum: *Crustacea*

Clase: *Malacostraca*

Subclase: *Eumalacostraca*

Superorden: *Eucarida*

Orden: *Decapoda*

Suborden: *Dendrobranchiata*

Superfamilia: *Penaeoidea*

Familia: *Penaeidae*

Género: *Litopenaeus*.

Especie: *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

1.2 Rasgos biológicos

Los camarones poseen un rostrum moderadamente largo con 7–10 dientes dorsales y 2–4 dientes ventrales. En los machos maduros, el petasma es simétrico y semi abierto, poseen espermátóforos complejos, consistentes de masa espermática encapsulada por la vaina. Las hembras maduras tienen el téllico abierto. En sus estadios larvario existen seis nauplios, tres proto-zoeas, y tres

etapas de mysis (Martínez-Córdova *et al.* 1998). Su coloración es normalmente blanca translúcida, pero puede cambiar dependiendo del sustrato, la alimentación y la turbidez del agua. La talla máxima es de 28 cm. Las hembras comúnmente crecen más rápido y adquieren una mayor talla que los machos (Pérez y Kensley, 1997).

1.3 Fisiología de camarones según Randall *et al.* (1998)

- a) El color de los camarones se debe a células especializadas en producir pigmentos específicos (cromatóforos) incrustados en el caparazón o exoesqueleto que le dan una coloración determinada.
- b) En la respiración utilizan branquias ubicadas en dos cámaras en los lados de la cabeza, es decir, en la región del cefalotórax y por debajo del exoesqueleto. En general, poseen de 6 a 20 pares de branquias sensibles a las variaciones de oxígeno del medio.
- c) La circulación es abierta. La sangre (hemocianina, que contiene cobre) circula del corazón dorsal, distribuyéndose por el cuerpo, posteriormente regresa al corazón pasando por las branquias, donde se oxigena.
- d) En altas salinidades los decápodos son osmoconformadores, adaptan su concentración sanguínea a la salinidad del mar. Sin embargo, los que viven en menores salinidades deben mantener una mayor concentración de la sangre que la del medio. Los órganos excretorios son las glándulas de las antenas.

- e) Son de hábitos alimenticios carnívoros-omnívoros y se alimentan predominantemente de noche. La boca está en posición ventral acompañada de mandíbulas (apéndices masticadores). Poseen un esófago corto y estómago dividido en dos cámaras.
- f) El sistema nervioso de los decápodos es ganglionar, incluye el encéfalo y ganglios a lo largo del cuerpo hasta el abdomen.
- g) Tienen sexos separados y en algunas especies con diferenciación externa, dos gónadas situadas en el cefalotórax, cerca del corazón. En machos los conductos desembocan al lado del primer par de apéndices abdominales, que están modificados en órganos copuladores. La fecundación es externa.
- h) Los camarones poseen una capa celular que segrega el caparazón o cutícula (exoesqueleto). Las capas interior y exterior están formadas de quitina (polisacárido aminado) y proteínas ligadas formando un complejo glicoprotéico.

1.4 La osmoregulación en crustáceos decápodos

La osmoregulación es una herramienta importante en la adaptación ambiental de la mayoría de los crustáceos (Pequex, 1995; Tantulo *et al.*, 2007) La correlación entre la tolerancia a salinidad y la habilidad a osmoregular durante la ontogenia y su relación a adaptaciones ecológicas, ha sido estudiada en crustáceos decápodos por varios autores (Charmantier *et al.*, 1988; Bouaricha *et al.*, 1991; Bouaricha *et al.*, 1994, Palacios *et al.*, 2004). La habilidad para osmoregular en

términos de la capacidad osmoregulatoria está determinada por la diferencia entre osmolalidad del suero y la osmolalidad del medio (Lignot *et al.*, 2000; Tantulo *et al.*, 2007). El balance osmótico en los camarones es modificado debido a que utiliza más energía para osmoregulación y canaliza menos energía para el crecimiento. En los tanques de cultivo, son expuestos a variaciones ambientales debido a lluvia y evaporación o por incremento del cultivo de camarón tierra adentro utilizando agua de pozo (Hurtado *et al.*, 2006.) Cuando los camarones se exponen a un medio diluido, tienen que confrontar la pérdida pasiva de iones de Na^+ y Cl^- , mediante ingreso activo de iones Na^+ del agua e intercambiándolo por H^+ a nivel de la membrana apical de las células osmoregulatorias (Palacios *et al.*, 2004). La osmoregulación de organismos acuáticos depende del transporte activo de iones por la bomba electrogénica localizada en la membrana celular, la cual depende de la actividad de ATP (Adenosín trifosfato) (Álvarez *et al.*, 2004). El estudio del balance iónico de los camarones peneidos ha recibido gran atención, pues durante un tiempo se consideró que la salinidad de los estanques de cultivo debería coincidir con el punto isosmótico para disminuir el costo energético asociado a la regulación iónica y osmótica. Sin embargo, el mejor crecimiento en muchas especies se observa a una salinidad distinta a su punto isosmótico (Brito *et al.*, 2000), lo cual ha generado una controversia alrededor del costo energético de los mecanismos osmorreguladores y su relación con el metabolismo.

1.5 Ecología

El camarón blanco es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, desde Sonora, México, hacia Tumbes, Perú, en aguas cuya temperatura es superior a 20 °C durante el año. *L. vannamei* se encuentra en hábitat marinos tropicales. Los adultos viven y se reproducen en mar abierto, mientras que la postlarva migra a las costas a pasar la etapa juvenil, la etapa adolescente y pre-adulta en sistemas estuarios, lagunas costeras y manglares (Figura 2).

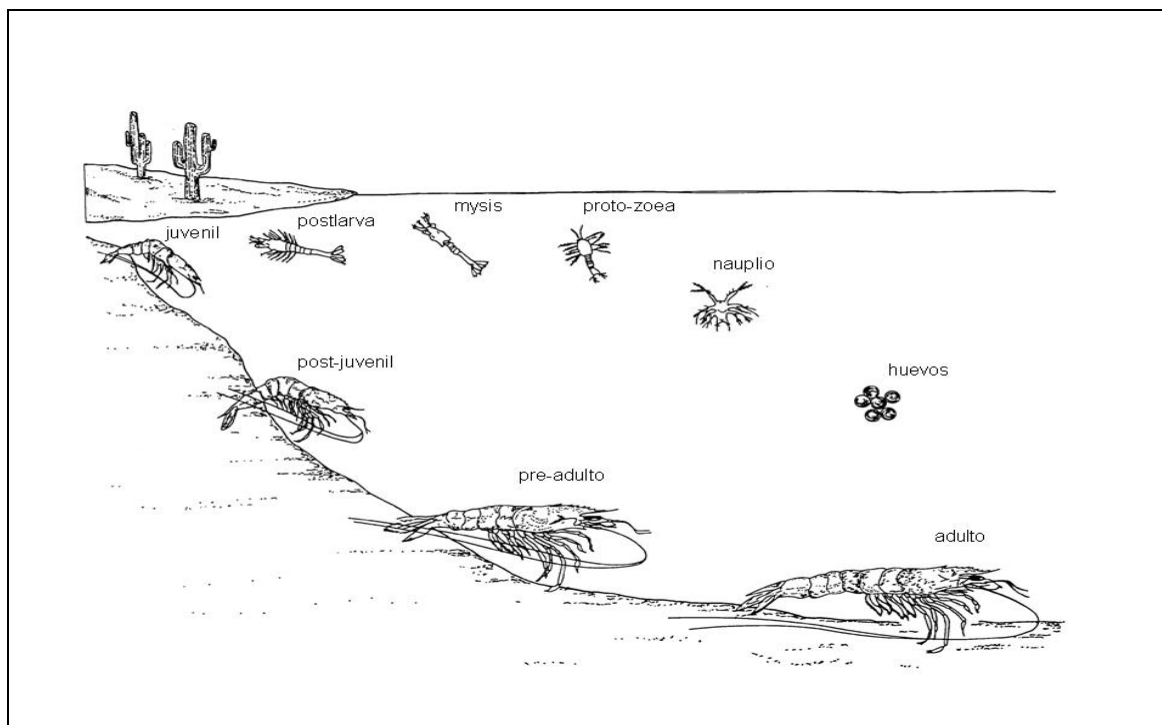


Figura 2. Ciclo de vida del camarón de la Familia Penaeidae (Martínez-Córdova *et al.*, 1999).

Los machos maduran a partir de los 20 g y las hembras a partir de los 28 g, a la edad de 6 a 7 meses. Cada hembra de *L. vannamei* libera de 100,000 a 250,000 huevos de aproximadamente 0,22 mm de diámetro. El periodo de incubación es

de aproximadamente 16 horas después del desove y fertilización. En la primera etapa, la larva, denominada nauplio, nada intermitentemente y es fototáctica positiva. Los nauplios no requieren alimentación, sino que se nutren de su reserva vitelina. Las siguientes etapas larvarias (protozoa, mysis y postlarva) continúan siendo planctónicas, se alimentan del fitoplancton y del zooplancton, y son transportados a la costa por las corrientes maréales (Martínez-Córdova *et al.* 1999). Las postlarvas (PL) cambian sus hábitos planctónicos cinco días después de su metamorfosis a PL, se trasladan a la costa y empiezan a alimentarse de detritos bénticos, gusanos, bivalvos y pequeños crustáceos (Pérez y Kensley, 1997).

1.6 Producción global del cultivo de camarón blanco, *L. vannamei*

El camarón blanco es una de las especie que más se cultiva en el mundo, debido principalmente a su rápido crecimiento, buena sobrevivencia a altas densidades de cultivo, y tolerancia a enfermedades, que lo hacen una buena elección para los cultivos intensivo o semi-intensivo (Ponce-Palafox *et al.*, 1997, Martínez-Córdova y Peña-Messina, 2005). Es cultivado comúnmente en aguas costeras con salinidades de 1 a 40 ‰ (Bray *et al.* 1994; Salud *et al.* 2003), y debido a la habilidad de la especie para mantener una regulación osmótica e iónica, tolera tanto baja, como alta salinidad en el agua. Existen reportes de que ha sido cultivado a 0.5 ‰ (Samocha *et al.*, 1998; Cheng *et al.*, 2005; Cheng *et al.* 2006), y a 0.2, 11, 21 y 31 ‰ (Yan, Wang y Mei, 2007).

Los principales países productores de *L. vannamei* se presentan en la Figura 3, mientras que la lista completa de países incluye: China, Tailandia, Indonesia, Brasil, Ecuador, México, Venezuela, Honduras, Guatemala, Nicaragua, Belice, Vietnam, Malasia, Taiwán, Islas del Pacífico, Perú, Colombia, Costa Rica, Panamá, El Salvador, EUA, India, Filipinas, Camboya, Surinam, Saint Kitts, Jamaica, Cuba, República Dominicana y Bahamas. Las estadísticas de FAO (2006) indican que el total de la producción de granjas de *L. vannamei* se incrementó significativamente de 8,000 toneladas en 1980, a 194,000 toneladas en 1998, y en 1999 - 2000, debido al síndrome de la mancha blanca o “white spot syndrome virus” (WSSV), se observó un pequeño declive en la producción mundial.

En América Latina, las estadísticas de FAO indican un rápido crecimiento de la producción a más de 1'386,000 toneladas en 2004. Debido a la creciente conciencia de los impactos negativos de las prácticas de cultivo de camarón sobre el ambiente y su propia producción, muchos países productores de camarón están realizando esfuerzos para cumplir con el concepto de la acuicultura responsable (FAO, 2006).

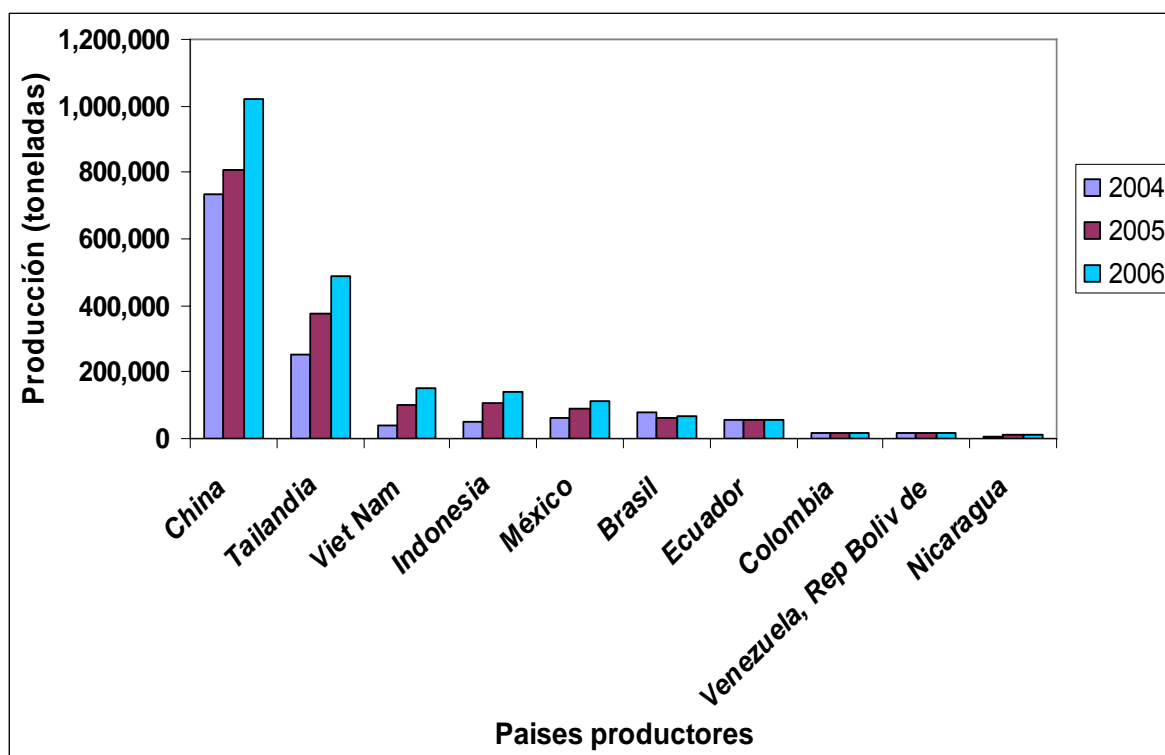


Figura 3. Producción acuícola global de 2004-2006 del camarón blanco *L. vannamei* (FAO, 2008).

1.7 Cultivo de camarón en México

La actividad acuícola en México (Figura 4) comenzó a ser una actividad económicamente importante a finales de los 70's y principios de los 80's (DeWalt *et al.* 2002). En México, la producción del cultivo de camarón en 2007 fue de 114,317 toneladas (FAO, 2008).

En la Figura 5, se presentan los sitios del país con actividad camaronícola incluyendo granjas de producción de camarón tierra adentro.

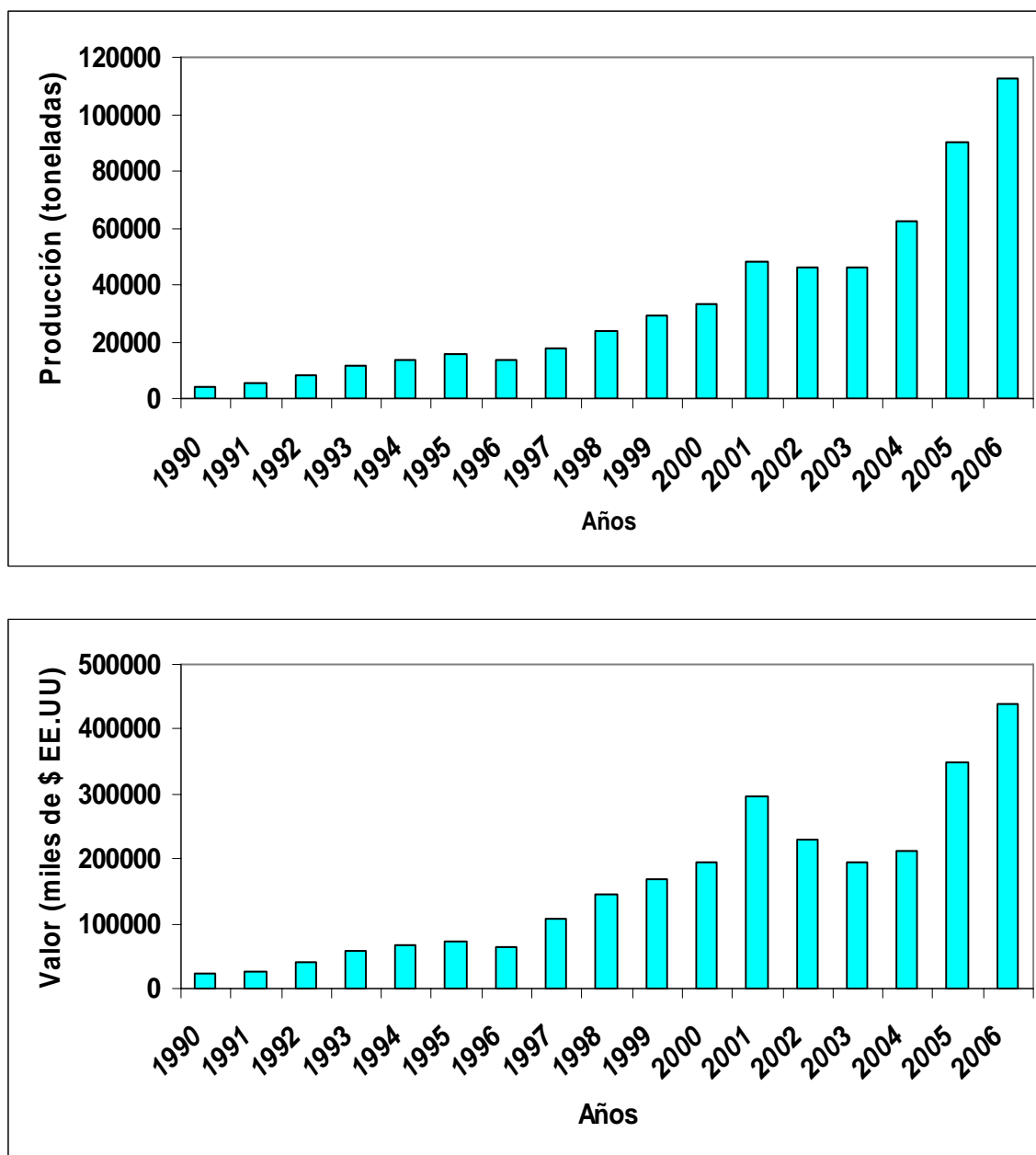


Figura 4. Producción acuícola en peso y valor económico de *L. vannamei* en México (FAO, 2008).

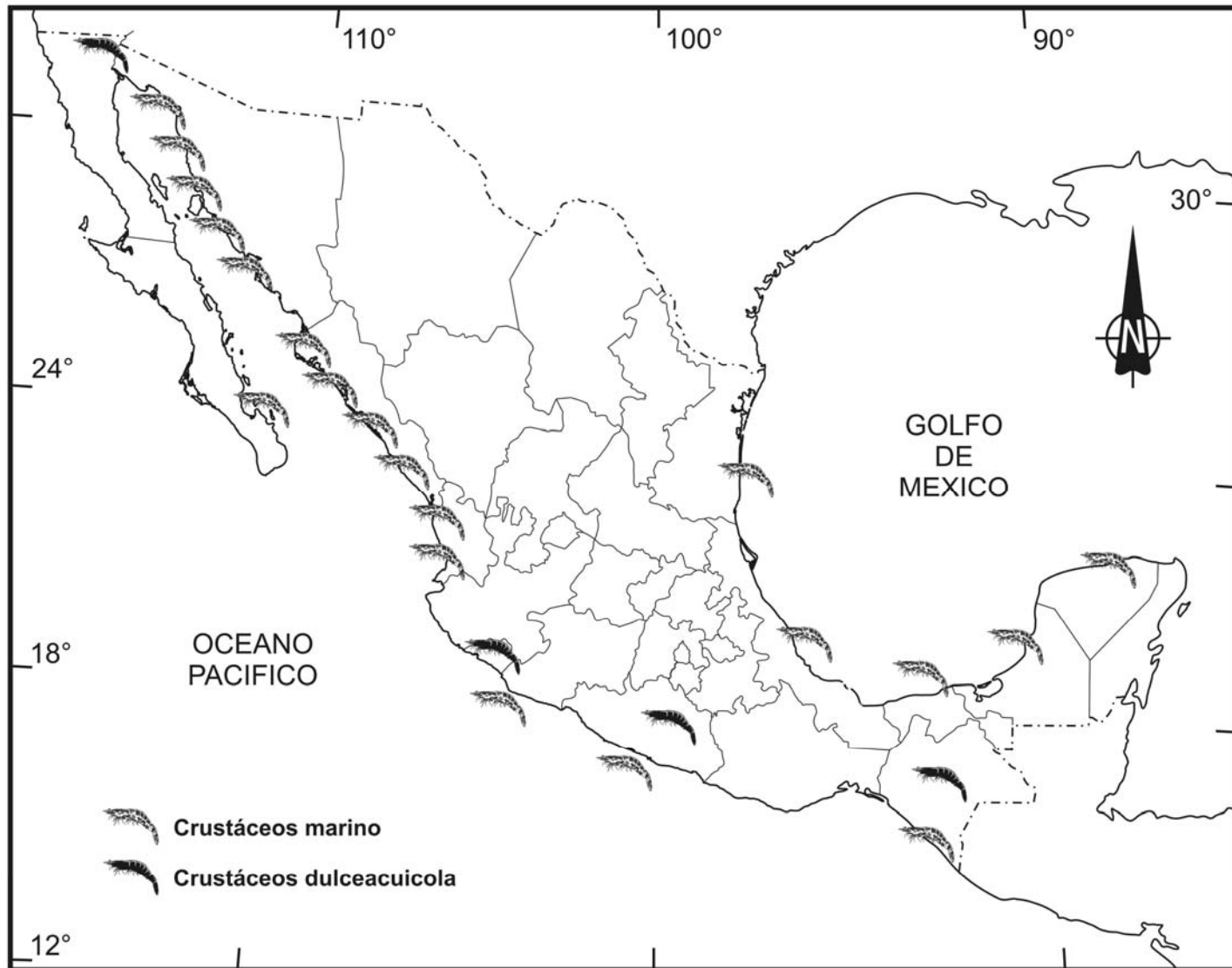


Figura 5. Áreas de cultivo de camarón marino y dulceacuícola en México

1.8 Sistemas de cultivo de camarón según Álvarez et al. (2000)

Las técnicas de cultivo para el crecimiento de *L. vannamei* se pueden sub-dividir en cuatro grandes categorías: extensivas, semi-intensivas, intensivas y súper-intensivas, que representan respectivamente, densidades de siembra baja, media, alta y extremadamente alta.

- a) **Cultivo extensivo:** el nivel de aplicación de nutrientes externos es muy bajo o inexistente, con llenado de estanques mediante intercambio de mareas y con producciones menores a las 500 kg/ha/año.
- b) **Cultivo semi-intensivo:** combinación de alimento artificial y fertilización, con un nivel de densidad de siembra por unidad de superficie intermedio, sin embargo, en el último año se promueven densidades aún menores como una medida de prevención a la presencia de enfermedades, en este sistema se realiza el llenado mediante bombeo y sus producciones son entre 1 y 2 toneladas/ha/año.
- c) **Cultivo intensivo:** con mayor uso de tecnología, con densidades superiores y producciones también por encima de las dos toneladas/ha/año (Álvarez et al., 2000).
- d) **Cultivo super-intensivo:** sin recambio de agua o la descarga, bioseguro, sustentable, con poco impacto ecológico pudiendo producir camarón de alta calidad con eficiencia costo-beneficio. La producción es de 28 000 a 68 000 kg/ha/cosecha, supervivencia de 55 a 90%, con un peso promedio de entre 16 y 26 g (FAO, 2007).

1.9 Investigación de nutrición y digestibilidad acuícola

En el campo de la nutrición, está considerado como un factor de crecimiento o promotor del crecimiento, cualquier elemento que al ser incorporado a la dieta en pequeñas cantidades, sin variar considerablemente su composición se logra una aceleración del crecimiento que se refleja en aumento de talla y peso corporal. Para ser efectivas estas sustancias deben tener la condición de mantener su integridad durante el proceso de digestión y lograr ser absorbidas de forma eficaz para ejercer su función en los tejidos musculares (Carrillo *et al.*, 2000). Alimento y alimentación son dos aspectos importantes a considerar en el cultivo de camarón (Martínez-Córdova *et al.*, 2003). El conocimiento de los requerimientos nutricionales de los camarones en diferentes condiciones medioambientales y etapas de desarrollo para un óptimo crecimiento, es crítico. El alimento puede llegar a constituir un 50-60 % de los costos de producción de un sistema de producción acuícola (Cruz-Suárez *et al.*, 2002; Cortés-Jacinto *et al.*, 2003; Martínez-Córdova *et al.* 2003), es por lo tanto de gran relevancia optimizar el uso de alimento artificial, tanto en lo relativo a su calidad nutricia, como a su suplementación en los sistemas de cultivo. En el primer caso, un parámetro muy importante a tomar en cuenta, es la digestibilidad de los nutrientes contenidos en el alimento.

Generalmente las dietas son formuladas con diferentes tipos de ingredientes, tanto de origen animal, como vegetal. Los ingredientes de origen animal son principalmente utilizados para satisfacer requerimientos proteicos, especialmente

a las especies carnívoras. Sin embargo, estos ingredientes generalmente son de mayor costo y de menor disponibilidad comparado con los de origen vegetal (Chamberlain, 1995). Su composición podría dar la impresión que es una excelente base de nutrientes para formular una dieta, sin embargo, tendría poca valor nutricional si los nutrientes no son bien digeridos y absorbidos en el tracto gastrointestinal del organismo (Koprucu y Ozdemir, 2005; Abimorad *et al.*, 2008). El costo de los alimentos esta en función de los ingredientes utilizados, por lo que es necesario conocer qué tipo de ingredientes pueden cubrir los requerimientos nutricionales a un bajo costo, considerando la cantidad y calidad de los ingredientes en la formulación de la dieta. Por lo tanto, la digestibilidad aparente de los ingredientes y de las dietas deben ser precisamente evaluadas (Campaña-Torres *et al.*, 2005; 2008).

Tacon (1996) menciona que la función y éxito de una dieta balanceada no solo esta en función de su contenido nutricional, sino también en sus características físicas (color, talla, forma, textura, densidad y estabilidad en el agua). Glencross *et al.*, (1999) indican que una dieta experimental (o de la referencia) esta formulada de ingredientes químico-definidos, así que los requerimientos nutricionales pueden ser definidos manipulando un ingrediente específico, sin afectar la disponibilidad de los nutrientes non-objetivos.

La hidroestabilidad, es la propiedad del alimento para mantener su forma y textura en el agua, sin lixiviarse durante el período de tiempo requerido para que el animal la ingiera en su totalidad (AAFCO, 2000). Esta propiedad es muy importante para

aquellas especies que tienen hábitos alimenticios lentos y que manipulan el alimento antes de ingerirlos, como en el caso de los camarones. Si el alimento se desintegra fácilmente, además de que el animal no está alimentándose balanceadamente, resulta perjudicial para la calidad del agua de los estanques. El alimento para que sea ingerido en su totalidad, y para obviar las pérdidas por lixiviación de los nutrientes, debe permanecer el menor tiempo posible expuesto al agua.

Entre las técnicas químicas de evaluación nutricional oficiales, existen algunas que se pueden aplicar independientemente de la especie, pero en otros casos es indispensable que los resultados sean validados con evaluaciones *in vivo*; ésta es la situación de las técnicas de digestibilidad, las cuales constituyen un parámetro de calidad muy importante (López *et al.*, 2005). El problema de la determinación de la digestibilidad *in vivo* es esencialmente el establecimiento de un balance apropiado entre los nutrientes que se incorporan en los alimentos y de los que salen a través de las heces. Hay dos métodos posibles: el método de recolección total (método directo) consistente en la recolección cuantitativa de las heces emitidas que corresponden a uno o varios alimentos, y el método con indicador (método indirecto) que requiere de la utilización de un marcador inerte en el alimento (*vgr.* Oxido crómico, Cr_2O_3). Con ello se evita el tener que hacer la recolecta total de las heces del organismo (método directo), mismo que se dificulta mucho en la acuicultura, por el hecho de que los animales se encuentran en el agua, y por tanto es poco práctico. El método indirecto se basa en los cambios

que ocurren en las proporciones del nutrimento y el marcador en el alimento y las heces, como producto de la ingestión, digestión y absorción de nutrimentos por el organismo (Guillaume y Ceccaldi, 1999).

La capacidad para optimizar las tasas de conversión alimenticia y la reducción de los problemas asociados a la acumulación de desechos orgánicos que degradan la calidad del suelo y agua de los estanques, depende de la acción conjunta de los fabricantes de alimentos (selección de materias primas, formulación y tecnología usada en la fabricación del alimento) y de los productores (forma de almacenamiento, manejo y distribución del alimento) (Cruz-Suárez *et al.*, 2002).

Los sistemas intensivos de producción en acuicultura están seriamente afectando el medio ambiente. Estudios de digestibilidad en organismos acuáticos han tomado recientemente gran interés debido a las regulaciones ambientales, las cuales obligan el uso de alimentos con bajo nivel de contaminación (salida de bajo nivel del nitrógeno y fosfato) (Lee y Lawrence, 1997). La metodología para determinar digestibilidad *in vivo* ha sido desarrollada en las últimas décadas, así como el uso de diferentes técnicas para la formulación de alimentos. Sin embargo, se desconoce la digestibilidad de la mayoría de las materias primas y alimentos, así como el efecto que la salinidad pueda tener sobre la digestibilidad de los alimentos, mismo que forma parte de los objetivos del presente trabajo de tesis.

2. ANTECEDENTES

2.1 Hidroestabilidad del alimento

La hidroestabilidad de las dietas es de suma importancia, ya que si una gran cantidad de nutrientes se disuelve en los primeros minutos después de la distribución, el beneficio de una buena fórmula se puede perder. Los alimentos que se desintegran rápidamente van a producir un desperdicio de alimento, una pobre tasa de conversión y una contaminación del agua (Cruz-Suárez *et al.* (2006).

El tipo de alimento y el nivel de la salinidad son factores que afectan significativamente la retención de materia seca en alimentos para el camarón (Obaldo *et al.* 2002).

En evaluación física de alimentos, Fox *et al.* (2006) reportaron que la hidroestabilidad de las dietas experimentales con suplementación del aminoácido esencial (AAE) metionina, fue significativamente más baja a 0 ‰ ($P < 0.0001$). Se mostró interacción significativa entre las dietas y diferentes salinidades (0, 15 y 30 ‰).

Cruz-Suárez *et al.* (2006) determinaron el porcentaje de pérdida de materia seca (PMS) y pérdida de proteína (PP) de alimentos comerciales de diferentes marcas, fabricados en México, realizando mediciones de lixiviación, utilizando agua marina sintética a 27°C y 28°C, y a salinidades de 30 y 32 ‰. Los alimentos comerciales evaluados presentaron rangos de PMS de 3 a 12 % y de PP de 5.5 a 20 %.

2.2 Efecto de la salinidad en la digestibilidad

Coelho (1984) evaluó los efectos de la salinidad (10 y 40 ‰) sobre la digestibilidad en *L. vannamei* y *L. stylirostris* en laboratorio, y los resultados indicaron que la salinidad no tuvo efecto significativo, a menos de que el alimento tuviese un bajo contenido proteico (20 % de proteína cruda), en cuyo caso la digestibilidad aparente de materia seca DAMS disminuyó al pasar de 30 a 40 ‰. Asimismo, reporta que la digestibilidad aparente de la proteína cruda (DAPC) no se vio afectada por la salinidad.

En juveniles de *L. vannamei* cultivados a salinidades de 40 y 50 ‰, la supervivencia y crecimiento no fueron significativamente afectados (Martínez-Córdova *et al.*, 1997, Ponce-Palafox *et al.*, 1997, Rosas *et al.*, 2001, Hurtado *et al.*, 2006). Para compensar el alto requerimiento de energía, los juveniles de *L. vannamei* necesitan consumir mas alimento (Hurtado *et al.*, 2006).

Pérez-Velázquez *et al.* (2007) determinaron que el cultivo de *L. vannamei* a salinidades de 2, 35 y 50 ‰ tiene un efecto significativo en su crecimiento. Los camarones cultivados a 50 ‰ registraron un peso final y ganancia en peso significativamente más bajos que los camarones cultivados a salinidad de 35 ‰, mientras que los camarones mantenidos a la salinidad de 2 ‰, tuvieron el peso final y ganancia en peso significativamente más altos que los organismos en cultivo a 35 y 50 ‰.

Yan *et al.*, (2007) determinaron el efecto de salinidad (0.2, 11, 21 y 31 ‰), y la temperatura (20, 24, 28 y 32°C) en la supervivencia, crecimiento y energía de juveniles de *L. vannamei* con peso inicial de 0.274-0.283 g; a 0.2 ‰, el crecimiento, consumo de alimento y coeficiente de digestibilidad aparente, demostraron un incremento a partir de 22°C, con un máximo a 28°C, disminuyendo a 32°C con las salinidades de 11, 21 y 32 ‰.

Beltrán *et al.* (2001) determinaron la digestibilidad de la harina de soya y la harina de pescado en *L. vannamei* a dos diferentes temperaturas (22°C y 28°C) y salinidades (16 y 35 ‰). La digestibilidad aparente de materia seca (DAMS), y proteína cruda (PC) de la harina de soya fue significativamente más alta comparada con la harina de pescado, lo que sugiere que las proteínas de harina de soya son más digeribles. Para la harina de pescado, la DAMS fue menor en la temperatura de 28° C, mientras que la digestibilidad aparente de los carbohidratos fue menor en condiciones de alta salinidad en ambas temperaturas. La alta salinidad tiene un efecto en la disminución de las DAMS, los lípidos y los carbohidratos de la harina de soya a una temperatura de 28°C (Beltrán *et al.*, 2001).

Robertson *et al.* (1993), recomiendan para *L. vannamei* altos niveles proteicos en condiciones hipersalinas., mientras que, Rosas *et al.* (2001) observaron en esta especie un mayor crecimiento con 50 % de PC, a baja salinidad al compararlos con camarones alimentados con 30 % de PC, mantenidos a baja o alta salinidad.

3. JUSTIFICACIÓN

La contribución de la acuicultura al suministro mundial de peces, crustáceos, moluscos y otros animales acuáticos, continua en crecimiento, ya que aumentó del 3,9 % de la producción total en peso en 1970 al 27,1 % en 2000 y un 32,4 % en 2004, un incremento significativo de la producción de crustáceos en el período 2000-2004 (FAO 2007).

En los sistemas de producción acuícola, el costo del alimento representa el parámetro de costos mas alto (en especial aquellos que contienen altos niveles de proteína), por lo que es básico entender los procesos de la digestibilidad aparente en los crustáceos. La identificación de los ingredientes con alta digestibilidad, bajo costo y que disminuyan la contaminación es actualmente muy necesaria para apoyar en la formulación de las dietas para la camaronicultura comercial, pero se desconoce la digestibilidad de la mayoría de los ingredientes utilizados para la formulación de alimentos, así como el efecto que tiene la salinidad de cultivo sobre la digestibilidad de los alimentos.

En las ultimas décadas, pocos trabajos se han sido realizados sobre digestibilidad en el camarón blanco *L. vannamei* cultivado en diferentes salinidades. Los factores abióticos y bióticos (temperatura, pH, salinidad, estrés, etc.) tienen gran influencia en la digestibilidad aparente en los crustáceos (Lee y Lawrence, 1997) por lo que, más estudios deberían enfocarse a este tema. Los resultados del presente trabajo podrían tener importancia económica y ecológica en la acuicultura comercial, porque se está tomando en cuenta no solo el componente

alimenticio, sino también a la salinidad como un factor abiótico limitante y muy significativo para los organismos acuáticos de ambientes marinos.

Además, sería información importante para aquellos acuicultores que cultivan camarones en condiciones de alta salinidad, como ocurre en muchas granjas del noroeste de México, así como para aquellos que lo hacen tierra adentro utilizando agua de muy baja salinidad.

4. HIPÓTESIS

- ❖ La hidroestabilidad de la materia seca de los alimentos para camarón se verá afectada por la salinidad del agua de cultivo, siendo mayor a medida que aumente la salinidad.

- ❖ La digestibilidad aparente *in vivo* de nutrientes y energía de los alimentos comerciales y experimentales para juveniles del camarón *L. vannamei* variará como resultado de la salinidad del agua de cultivo, obteniéndose las mejores digestibilidades a las salinidades de 5 y 35 ‰, que son más cercanas a las salinidades donde habitan los organismos juveniles en el medio natural.

5. OBJETIVO

5.1 Objetivo general

❖ Determinar la hidroestabilidad de la materia seca y la digestibilidad aparente *in vivo* de alimentos comerciales y experimentales en juveniles de *Litopenaeus vannamei* cultivados a diferentes salinidades.

5.2 Objetivos particulares

❖ Determinar la hidroestabilidad de la materia seca de alimentos comerciales y experimentales para *L. vannamei*, a diferentes salinidades (5, 35 y 50 ‰).

❖ Determinar la digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca, proteína, lípidos, carbohidratos y energía de seis alimentos comerciales y dos experimentales para juveniles del camarón *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades (5, 35 y 50 ‰).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 *Diseño experimental*

Se midió la hidroestabilidad de 8 alimentos a diferentes salinidades (5, 35 y 50 ‰) con 3 réplicas. Para las determinaciones de digestibilidad, se aplicó un diseño bifactorial (8 alimentos vs 3 salinidades) con 4 réplicas por tratamiento. Para ello, se realizaron tres bioensayos sucesivos de digestibilidad *in vivo* de materia seca y nutrimentos de los alimentos a diferentes salinidades (5, 35 y 50 ‰). La digestibilidad se determinó en camarones juveniles de *Litopenaeus vannamei* con peso promedio de 7.0 ± 1.1 g.

6.2 *Alimentos experimentales y comerciales*

Los alimentos evaluados fueron los siguientes: una dieta control (CIB) fabricada en el laboratorio; una dieta de referencia, formulada en la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y fabricada en una planta de alimentos industrial, así como seis alimentos comerciales con formulación típica para la engorda de camarón. La composición en ingredientes de las dietas control (CIB) y referencia (UANL) se presentan en la Tabla I.

Tabla I. Composición en ingredientes (g/100 g de alimento) de los alimentos experimentales (CIB) y (UANL), utilizados para evaluar la digestibilidad *in vivo* en juveniles de *L. vannamei*.

INGREDIENTE	ALIMENTOS	
	CIB ^a	UANL ^b
Harina de trigo ¹	45.6	45.1
Harina de pescado (sardina) ¹	22.8	34.0
Pasta de soya ¹	19.0	14.0
Aceite de sardina ¹	4.0	2.8
Lecitina de soya ²	2.0	3.5
Premezcla vitaminas y minerales (Tablas II y III)	3.5	0.5
Vitamina C ³ (35% a.a.)	0.09	0.04
Antioxidante BHT ⁴	0.004	0.02
Ácido algínico ⁵	2.0	1.0*
Óxido crómico ⁶	1.0	1.0*

¹Promotora Industrial Acuasistemas, S.A., La Paz, B.C.S., México. ²ODONAJI, Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales, S.A. de C.V., México, D.F. ³ROCHE, D.F., México. ⁴Butylated hydroxytoluene, ICN # cat. 101162., ⁵ALDRICH # cat. 180947-500G., ⁶Óxido crómico (SIGMA-ALDRICH^{MR} No. de catálogo A-7128) ^aFórmula control de alimento LV0505-D, fabricado en el laboratorio de Nutrición Acuícola del CIBNOR. ^bFórmula (ARD-F-65, Lote 1900), fabricado por peletización a nivel industrial. * Aditivos adicionados al alimento durante su procesamiento en el laboratorio.

Tabla II. Composición de la premezcla de vitaminas.

Vitaminas	Número de Catálogo	g Kg ⁻¹ de premezcla
Vitamina A acetato (retinol)	160079 ^a	0.5
Vitamina D ₃ (colecalfiferol)	160107 ^a	0.001
Vitamina E (tocoferol)	100555 ^a	8.0
Vitamina K ₃ (menadiona)	102259 ^a	2.0
Tiamina (B ₁) mononitrato	T-4625 ^b	0.5
Riboflavina (B ₂)	R-4500 ^a	3.0
Piridoxina (B ₆)	102777 ^a	1.0
Ácido D-pantoténico	101228 ^a	5.0
Niacina (Ác. Nicotínico)	102446 ^a	5.0
D-Biotina	B-4501 ^b	0.05
Inositol	I-5125 ^b	5.0
Ácido fólico	101725 ^a	0.18
Cianocobalamina (B ₁₂)	103271 ^a	0.002
Celulosa (vehículo)	191499 ^a	965.27

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

Tabla III. 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

^aSIGMA Co. St. Louis, USA.

6.2.1 Fabricación del alimento control experimental CIB

La formulación del alimento experimental control del CIB se realizó con el software MIXIT-WIN^{MR}. El alimento se fabricó en la Planta de Alimentos del CIBNOR siguiendo el método descrito por Cortés-Jacinto *et al.* (2003). Los macroingredientes se pulverizaron previamente en un pulverizador (PULVEX^{MR} modelo 300, México) y los microingredientes en un molino de café. Todos los ingredientes fueron tamizados a través de un tamiz de 250 micras y dosificados en una balanza (OHAUS^{MR}, Suecia) con precisión de 0.001 g.

En el proceso de fabricación se hicieron tres premezclas: una de macroingredientes, una de microingredientes y una emulsión con las fuentes de lípidos. Para ello, se premezclaron primero los macroingredientes secos (harina de sardina, pasta de soya, harina integral de trigo) en una mezcladora (HOBART^{MR}, 20 L, USA) por 10 a 15 minutos a baja velocidad (Figura 6).



Figura 6. Mezclado de micro y macroingredientes.

Los microingredientes secos (premezclas de vitaminas y minerales) en recipiente aparte, se premezclaron manualmente, y después mecánicamente en la mezcladora a baja velocidad. Una vez que esas premezclas estuvieron listas, se adicionó una pequeña porción de la premezcla de microingredientes a los macroingredientes ya mezclados (Figura 6), de tal manera de ir mezclando poco a poco los ingredientes y uniformizando la mezcla. Posteriormente, ésta se dejó en la mezcladora por un período de 10 a 15 minutos a velocidad baja. Paralelamente, se hizo una emulsión con los lípidos (aceite de pescado y lecitina de soya), misma que se agregó a la mezcla y se dejó en la mezcladora por 10 min. a velocidad intermedia. Posteriormente se le adicionó agua hirviendo a razón de 35 a 50 % del peso de la masa, y se dejó mezclando por 10 min a velocidad intermedia y 5 min. a velocidad más rápida. La masa fue extruída en un molino de carne (Tor-Rey^{MR}, 2

½ hp, Monterrey, N.L., México) equipado con cedazo de 2 mm de diámetro. Los pelets obtenidos fueron cortados manualmente con la ayuda de una espátula metálica a medida que salían del molino de carne (Figura 7), a manera de obtener pelets de aproximadamente 1 cm de longitud. Los pelets se colocaron en charolas de plástico con papel estrasa y se secaron a 50°C por 8 horas en una estufa con circulación de aire (Hafo Series 1600, Sheldon Manufacturing, Cornelius, OR, USA), y posteriormente a temperatura ambiente dentro de una campana de extracción hasta disminuir el contenido de humedad a 8 – 10 %, mismo que fue monitoreado con una termo-balanza (OHAUS^{MR}, Suecia). Finalmente se empacó en bolsas de plástico etiquetadas y se almacenaron a 4°C hasta su utilización. Se destinó una muestra de 50 g del alimento para realizar la prueba de estabilidad en el agua y determinar su composición química y en óxido crómico.



Figura 7. Extrusión en molino de carne

6.2.2 Reprocesamiento de los alimentos comerciales y el experimental UANL

El alimento experimental de referencia de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) se formuló con el software MIXIT-WIN^{MR} y se fabricó en una Planta de Alimentos Balanceados a nivel industrial, por medio de un proceso de peletización. Los alimentos comerciales usados aquí, fueron proporcionados por el personal del Laboratorio de Maricultura de la UANL, que a su vez los obtuvo a través de muestreos realizados directamente en diversas granjas camaroneras.

Para el caso de alimentos comerciales y el de referencia de la UANL, éstos fueron re-procesados en la Planta de Alimentos del CIBNOR, a fin de incluirles el marcador inerte (óxido crómico) necesario para realizar las mediciones de digestibilidad. Para ello, cada alimento fue molido en un molino CICLOTEC^{MR} provisto de una malla 35 (500 micras). Después, por cada 98 g de alimento se adicionaron 1g de óxido crómico (SIGMA-ALDRICH^{MR} No. de catálogo A-7128) y 1g de ácido algínico (ALDRICH^{MR} No. de catálogo 180947-500G) como aglutinante. Posteriormente, se colocaron en una mezcladora con capacidad de 20 L (HOBART^{MR}, USA, Figura 6), se adicionó agua hirviendo a razón de 35 a 50 % de peso de la masa, y se mezcló por 15 min. El proceso de obtención del alimento peletizado se realizó de acuerdo a lo indicado en el inciso anterior (Figura 7). Se destinó una muestra de 50 g de cada alimento para realizar la prueba de estabilidad en el agua y determinar su composición proximal y en óxido crómico.

6.3 Determinación de estabilidad en el agua de los alimentos

Se realizaron pruebas de lixiviación por triplicado a cada una de los alimentos para determinar el porcentaje de materia seca retenida (MSR), después de 60 minutos de inmersión, siguiendo la metodología de Obaldo *et al.* (2002), a las salinidades utilizadas de cada uno de los bioensayos (5, 35 y 50 ‰). Para ello, se pesaron 2 g de alimento (de humedad conocida), se colocaron en un matraz de 250 mL conteniendo 200 mL de agua a 5, 35 y 50 ‰. Después de 1 h de inmersión con agitación constante a 100 r.p.m. y 27°C en un agitador horizontal (Lab-line^{MR}, 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.

La fórmula para determinar la materia seca retenida (MSR) o estabilidad de la muestra en el agua es la siguiente:

$$\text{MSR (\%)} = (\text{Peso seco del alimento residual} / \text{Peso seco del alimento inicial}) \times 100$$

(ecuación 1)

6.4 Determinación de la digestibilidad aparente in vivo

6.4.1 Sistema experimental de cultivo

Los bioensayos de digestibilidad se realizaron en el laboratorio de Nutrición Experimental del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR) en La Paz, B.C.S., México. Para ello, se utilizó un sistema de 88 acuarios con capacidad de 60 L c/u (Figura 8), y seis tanques de fibra de vidrio con capacidad de 1,500 L para la aclimatación de los camarones.



Figura 8. Sistema de cultivo para bioensayos de digestibilidad en el Laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR.

El agua marina en el laboratorio se abastece pasando por un filtro de arena de 70 μm (Cristal F10), filtros de cartucho (10 y 5 μm) y luz ultravioleta, para luego ser conducida por tubería de PVC a los acuarios. El sistema de abastecimiento de agua dulce consistió en un tanque de plástico con capacidad de 1,100 L (Rotoplas^{MR}), en donde se almacenaba agua de uso doméstico, y agregaba agua de mar hasta llegar a la salinidad requerida, utilizando una bomba sumergible de 1/3 hp (Little Giant^{MR}, USA); ahí mismo, se recirculaba el agua para homogenizarla y tomar lecturas precisas de la salinidad a utilizar en cada bioensayo (5, 35 y 50 ‰) con la ayuda de un refractómetro (Extech Instruments Corporation^{MR}, modelo RF20, USA). El agua se suministró al sistema de acuarios por medio de una bomba sumergible de 1/3 hp y una manguera de 1”.

6.4.2 Organismos experimentales

Los juveniles de camarón blanco *L. vannamei* fueron obtenidos de la granja camaronera Acuicultores de la Península (La Paz, B.C.S, México). Durante el periodo de aclimatación (granja-laboratorio) los camarones se mantuvieron en tres tanques de fibra de vidrio con capacidad de 1, 500 L, a una salinidad de 35 ‰ y, se alimentaron dos veces al día con alimento comercial peletizado (PIASA^{MR}, La Paz, B.C.S. México) con 35 % de proteína cruda (PC).

6.4.3 Condiciones de cultivo

Las condiciones de cultivo durante los bioensayos fueron las siguientes: se mantuvo una densidad de 10 camarones/acuario y el fotoperíodo fue de 12h Luz: 12h Oscuridad (fotofase de 06:00 a 18:00 hrs.). La temperatura se mantuvo en $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante los 120 días de cultivo en los tres niveles de salinidad, utilizando calentadores sumergibles de 100 Watts (Aquarium Pharmaceuticals, Inc.^{MR} Ancey, Paris, Francia) en cada acuario. Se mantuvieron niveles de oxígeno de $5.0 \pm 0.78 \text{ mg O}_2/\text{L}$, utilizando un soplador de 5 HP (Sweetwater^{MR}, Apopka, FL., USA) y piedras difusoras. Los N-nitratos y N-nitritos se midieron en el agua utilizada en cada bioensayo, mediante los métodos de Strickland *et al.* (1972); amonio mediante el método de Solórzano (1969); ortofosfatos disueltos y fósforo total mediante el método de Murphy y Riley (1962); alcalinidad por método volumétrico de punto final con fenolftaleína y verde bromocresol utilizando H_2SO_4 , y la dureza total se realizó con una bureta digital (Brinkmann de 25 ml con precisión de 30 μl). La temperatura, salinidad y O_2 se registró diariamente, N-

nitratos, N-nitritos y amonio se registraron al inicio y al final de cada uno de los bioensayos. Aproximadamente 50 % del agua de cada acuario fue reemplazada diariamente; el abastecimiento se obtuvo del tanque de plástico de 1,100 l (Rotoplast^{MR}), donde previamente se almacenaba el agua a la salinidad en uso en cada uno de los bioensayos (5, 35 ó 50 ‰).

Después del periodo inicial de aclimatación a las condiciones del laboratorio donde los organismos estaban a una salinidad de 35 ‰, los camarones fueron transferidos a acuarios de 60 L, para iniciar el bioensayo 1 a la salinidad de 5 ‰. Para ello, se fue bajando la salinidad de 35 ‰ a 5 ‰, de forma gradual, a razón de 5 ‰/día. Durante este periodo, se fue alimentando con cada uno de los alimentos comerciales y experimentales a los organismos, para iniciar la colecta al cabo de siete días de aclimatación al alimento. Concluida la colecta de heces (aprox. 1.8 g en base seca), los organismos se aclimataron durante un periodo de siete días nuevamente, durante los cuales se fue incrementando en promedio 5 ‰/día hasta llegar a las 35 ‰ (segundo bioensayo), tras lo cual se realizó la colecta de heces de acuerdo a lo indicado en inciso 6.4.4. Posteriormente, los mismos organismos se aclimataron lentamente hasta incrementar la salinidad a 50 ‰. Para ello, previamente se colocó en el tanque de plástico de 1,100 L, agua marina a 40 ‰, y se agregaba sal libre de yodo (La Paz, B.C.S., México) mezclando con una bomba sumergible (Little Giant^{MR}, USA) de 1/8 H.P. y manguera de 1", utilizándose como un sistema de recirculación interior del tanque de almacenamiento para agilizar la mezcla de la sal con el agua. Después, se verificaba la salinidad con un refractómetro (Extech Instruments Corporation^{MR}, modelo RF20, USA) cada 15 ó

20 minutos, hasta obtener la salinidad de 50 ‰ en que se desarrolló el tercer bioensayo. El agua era entonces bombeada hacia los acuarios donde se encontraban los organismos experimentales.

6.4.4 Colecta de heces

Los organismos fueron alimentados y aclimatados en cada uno de los bioensayos por un período de siete días previo a la colecta de heces para cada salinidad de cultivo. Una vez ocurrido esto, se inició la colecta de heces de la siguiente manera: a las 8:30 h se eliminaban los residuos fecales y alimento residual del día anterior mediante sifón en cada acuario. De existir camarones muertos fueron removidos y se registraron en la bitácora del experimento. Los camarones fueron alimentados entre las 9:30 y 10:30 h, iniciando con una cantidad de alimento igual al 3 % de la biomasa en cada acuario. Las heces fueron recolectadas por sifoneo con ayuda de una manguera de plástico de 1/8", tratando en lo posible de colectar solo las heces (en caso de ser poca la cantidad de heces se utilizaba un gotero de plástico) y no contaminarlas con residuos de alimento. La primera colecta se inició a los 90 minutos después de haber suministrado el alimento. Las muestras de heces fueron recibidas en recipientes de plástico de 1L para ser inmediatamente enjuagadas con agua destilada para eliminar la sal. Posteriormente, las heces fueron colocadas en frascos de vidrio (uno por acuario) previamente etiquetados con el número del acuario, y después fueron congeladas a -10 °C. Este mismo procedimiento fue repetido, distribuyendo una segunda ración de alimento entre las 13 y 14:00 h, para hacer la segunda colecta de heces a los 90 min. Al final de la jornada, los animales fueron

nuevamente alimentados, pero ya no se colectaron las heces, Las heces colectadas de un mismo acuario durante todo el bioensayo, (pool) fueron congeladas a -80 °C, y posteriormente liofilizadas para realizarles los análisis químicos.

6.4.5 Análisis químicos

Los ingredientes que se utilizaron en la formulación de las dietas experimentales, así como los alimentos ya reprocessados, se analizaron en el laboratorio de Análisis Químico Proximal del CIBNOR, para conocer su contenido en proteína (micro Kjeldahl, TECATOR^{MR}, Suecia), extracto etéreo (Soxhlet, Avanti^{MR}, Suecia), humedad (horno a 70 °C durante 24 h), fibra cruda (hidrólisis ácido-básica, FIBERTEC^{MR}, Suecia), energía (calorímetro adiabático, PARR Instruments^{MR}, mod. 1261, Illinois, USA), y cenizas (mufla a 550 °C durante 24 h), según los métodos de la A.O.A.C. (1995).

El extracto libre de nitrógeno (ELN) fue calculado por diferencia a 100%:

$$\text{ELN} = 100 \% - (\% \text{ proteína} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ ceniza} + \% \text{ fibra cruda})$$

(ecuación 2)

Las muestras de heces fueron analizadas para determinar su contenido de proteína, lípidos y carbohidratos. Para proteína se usó el método micro Kjeldahl (TECATOR^{MR}, Suecia). Se peso 0.1 g de cada muestra y se colocaron en tubos de digestión Kjeldahl. Se peso 0.1 g de EDTA utilizado como estándar y se colocó en el tubo de digestión Kjeldahl. Se le adicionó a cada uno de los tubos un catalizador

en forma de pastilla con un peso aproximado de 1.6 g. Posteriormente se le añadió 3 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄), utilizando una pipeta repetidora a cada uno de los tubos. Una vez que el digestor alcanzó los 430 °C se colocaron los tubos con muestra colocando con la tapa de succión sobre la boca de los tubos y se encendió la bomba de succión. Se retiran los tubos cuando presente una coloración verde cristalina el tiempo estará dado a la cantidad de proteína que contenga cada muestra, se dejaron enfriar. Después la destilación sigue verificación que todos los recipientes contengan sus respectivas soluciones (en agua destilada, solución receptora, álcali, y ácido para titulación). Se destilan primeros los blancos, posteriormente las muestras.

Las fórmulas para determinar % de nitrógeno y de PC son las siguientes:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.05 \times 0.014}{\text{g de muestra}} \times 100$$

(ecuación 3)

$$\text{Proteína cruda} = (\% \text{ N}) \times \text{Factor } 6.25 \text{ (generalmente)}$$

(ecuación 4)

Para determinar lípidos totales se usó el método de Bligh and Dyer (1959) (Figura 9). De cada una de las muestras, se tomaron 100 mg de heces y se les agregará 6.3 mL de la mezcla metanol:cloroformo:agua (2:1:0.8; v:v:v) como primer solución extractora, se agitará en vortex, y dejó en reposo a 4 °C durante 12 h. Después de este tiempo se agitó en vortex y se centrifugó a 1,000 g rpm por 10 minutos, el residuo se sometió a una doble extracción con 5 mL de metanol:cloroformo. Se centrifugó y se separó la mezcla cloroformo: lípidos, y la fracción metanol:agua:lípidos residual, se sometió a un doble lavado con cloroformo. La mezcla cloroformo:lípidos se sometió a un proceso de evaporación, los lípidos residuales se recuperaron utilizando 1 mL de cloroformo para ser vertidos en viales. El cloroformo se evaporó utilizando una corriente de nitrógeno. El porcentaje de lípidos totales se obtiene por diferencia entre el peso de la muestra inicial con lípidos y el peso de los lípidos recuperados, mediante la siguiente ecuación:

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

(ecuación 5)



Figura 9. Tubos con muestras de heces y la mezcla metanol:cloroformo:agua. B) Equipo utilizado en el método Bligh and Dyer (1959).

Para medir carbohidratos se usó el método de antrona (9,10-dihidro-9-oxoantraceno) (Dreywood, 1946). Se pesó 0.1 g de muestra y se hidrolizó con 3 mL de solución HCl 2 N durante 60 minutos a 100 °C., posteriormente a 1 mL del hidrolizado se le adicionó 2 mL del reactivo de antrona (2 mg antrona/mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado), se calentó la mezcla a 80 °C por 15 minutos, se enfrió en baño de hielo, y se leyó absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro (JEN WAY 6505 UV/Vis). Se corrió una curva estándar con glucosa para determinar la concentración de carbohidratos.

A fin de determinar los coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDA) de los nutrientes, se determinó el contenido de óxido crómico (Cr₂O₃) en las muestras siguiendo el método de Furukawa y Tsukahara (1966). A 50 mg de material fecal finamente molidos (< 500 micras) se colocaron en un tubo Tecator^{MR} de 100 mL y se les adicionó 5 mL de HNO₃ (Figura 10).

Los tubos fueron colocados en un digestor (Tecator^{MR}, Clontarf, Australia) y al término de la reacción, indicada por el color verdoso claro de la solución, se dejó enfriar. Una vez fría la solución, se le agregó con cuidado 3 mL de ácido perclórico (HClO₄) y se sometió a un proceso de digestión hasta que la solución cambia 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 se pasó a un matraz volumétrico de 25 mL, se aforo con agua destilada, y se tomó una muestra para leer su absorbancia a 350 nm en un espectrofotómetro (JENWAY 6505 UV/Vis).



Figura 10. Los tubos Tecator^{MR} de 100 mL con el contenido de óxido crómico (Cr₂O₃) en las muestras (método de Furukawa y Tsukahara, 1966).

Las fórmulas para el cálculo del valor de Cr_2O_3 son:

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

(ecuación 6)

X = cantidad de Cr_2O_3 presente en la muestra

Y = absorbancia

0.0032 y 0.2089 son constantes

donde: $\% \text{Cr}_2\text{O}_3 = 100 \times (X / A)$ A = Peso de la muestra

(ecuación 7)

6.4.6 Coeficientes de digestibilidad aparente in vivo

Los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca, proteína, lípidos, carbohidratos y energía (DAMS, DAP, DAL, DACHO y DAE) de los alimentos fueron calculados utilizando las ecuaciones de Cho y Slinger (1979):

$$\text{CDA de materia seca (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en alimentos}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces}} \right) * 100 \right]$$

(ecuación 8)

$$\text{CDA de nutrientes (\%)} = 100 - 100 \left[\left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en alimento}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces}} \right) * \left(\frac{\% \text{Nutriente en heces}}{\% \text{Nutriente en alimento}} \right) \right]$$

(ecuación 9)

CDA de energía (%) = (energía digerible, kJ/g/ energía bruta, kJ/g) x 100

(ecuación 10)

donde:

Energía digerible (kJ/g) = (g nutriente/100 g dieta) × (CD nutriente / 100) × (valor energético, kJ/g).

(ecuación 11)

La energía digestible fue calculada en base al los valores energéticos 23, 35, y 15 kJ/g para proteínas, lípidos y carbohidratos, respectivamente (Cousin, 1995).

6.5 Análisis estadísticos y procesamiento de datos

Los datos de hidroestabilidad de los alimentos a las tres salinidades de cultivo se analizaron con análisis bifactorial y de rangos múltiples de Tukey para encontrar diferencias entre alimentos. Se realizó también un análisis de varianza bifactorial para evaluar diferencias en digestibilidad aparente de nutrientes y energía a las diferentes salinidades, así como la prueba de Tukey para encontrar diferencias entre tratamientos. Se consideró que las diferencias entre los factores y grupos son significativas cuando $P < 0.05$. Los valores en porcentaje fueron normalizados mediante transformación arco-seno (Zar, 1996), para presentación fueron retransformados. Los análisis fueron realizados usando Statistica 7[®] (StafSof, Inc. Tulsa, USA.).

7. RESULTADOS

La Tabla IV presenta los valores de los parámetros de calidad de agua durante los bioensayos. Las condiciones de cultivo se mantuvieron homogéneas a lo largo de los tres bioensayos.

En la Tabla V se presentan los resultados del análisis químico proximal y de energía bruta de los alimentos evaluados. En general los alimentos comerciales presentan un contenido de proteína cruda (PC) superior al 35 %, mientras que las dietas CIB y UANL contienen un 33 % de PC. El nivel de lípidos fue variable, con menor nivel en la D4 (5.9 %) y el mayor en la D5 (9.5 %). El alimento D2 presenta el contenido de ceniza significativamente más alto (14.4 %), seguido del alimento D5 (12.2 %).

Tabla IV. Valores de los parámetros fisicoquímicos de calidad de agua del agua utilizada en los bioensayos de digestibilidad *in vivo* a salinidades de 5, 35 y 50 ‰.

Muestra	Temp.	O ₂	Nitritos	Nitratos	Amonio	Ortofosfatos	Fósforo	Dureza	Alcalinidad
	°C	mg/l	µM/l	µM/l	µM/l	µM/l	Total µM/l	Total mg/l	CaCO ₃ mg/l
5 ‰	27.5 ± 0.9	5.0 ± 0.78	0.261	400	5.210	0.248	0.233	1029	241.0
35 ‰	27.5 ± 0.9	5.0 ± 0.78	0.145	12.8	<0.500	0.582	0.680	6893	137.9
50 ‰	27.5 ± 0.9	5.0 ± 0.78	< 0.100	11.5	1.660	0.321	0.604	6993	138.8

µM = Micromoles.

Tabla V. Composición proximal (g/100 g de materia seca \pm Desviación Estándar) y energía bruta de los alimentos usados en los bioensayos de digestibilidad en juveniles de camarón blanco *L. vannamei*

	CIB	UANL	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Materia seca ¹	93.0 \pm 0.23 ^a	93.6 \pm 0.17 ^c	92.4 \pm 0.09 ^d	91.3 \pm 0.09 ^e	92.3 \pm 0.07 ^d	91.7 \pm 0.23 ^e	93.3 \pm 0.04 ^e	93.0 \pm 0.22 ^a
Proteína Cruda	33.5 \pm 0.27 ^g	33.4 \pm 0.45 ^g	37.9 \pm 0.15 ^c	38.3 \pm 0.25 ^b	39.0 \pm 0.08 ^a	34.5 \pm 0.08 ^f	35.6 \pm 0.30 ^e	37.4 \pm 0.05 ^d
Extracto etéreo	7.0 \pm 0.1 ^{b,c}	7.0 \pm 2.0 ^{b,c}	8.2 \pm 0.02 ^{a,b}	9.4 \pm 1.3 ^a	9.3 \pm 0.02 ^a	5.9 \pm 0.78 ^c	9.5 \pm 0.03 ^a	7.2 \pm 2.0 ^{b,c}
Ceniza	8.7 \pm 0.03 ^h	11.5 \pm 0.04 ^d	11.2 \pm 0.07 ^e	14.4 \pm 0.04 ^a	12.0 \pm 0.10 ^c	9.7 \pm 0.04 ^g	12.2 \pm 0.03 ^b	10.3 \pm 0.03 ^f
Fibra cruda	3.0 \pm 0.26 ^a	1.5 \pm 0.00 ^b	1.3 \pm 0.00 ^{b,c}	1.4 \pm 0.00 ^b	0.6 \pm 0.61 ^d	1.0 \pm 0.06 ^{c,d}	0.9 \pm 0.03 ^d	1.5 \pm 0.22 ^b
E.L.N	49.2 \pm 0.26 ^a	45.0 \pm 2.26 ^b	41.3 \pm 0.24 ^{cd}	36.4 \pm 1.58 ^f	39.2 \pm 0.79 ^{ef}	49.0 \pm 0.72 ^a	41.8 \pm 0.39 ^c	43.6 \pm 0.75 ^{b,c}
Energía (kJ/g)	18.3 \pm 0.2 ^b	18.2 \pm 0.1 ^c	18.2 \pm 0.1 ^c	17.9 \pm 0.0 ^d	18.2 \pm 0.0 ^{cd}	17.8 \pm 0.1 ^e	18.2 \pm 0.1 ^c	18.4 \pm 0.0 ^a

¹ g/100 g de materia fresca. Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada renglón son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

La estabilidad en el agua de la materia seca de todos los alimentos evaluados fue superior a 86 % (Figura 11 y Tabla VI), se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) por efecto de la salinidad del agua. Los alimentos presentan una estabilidad significativamente superior a la salinidad de 50 ‰, con respecto a la de 35, y ésta última con respecto a la de 5 ‰.

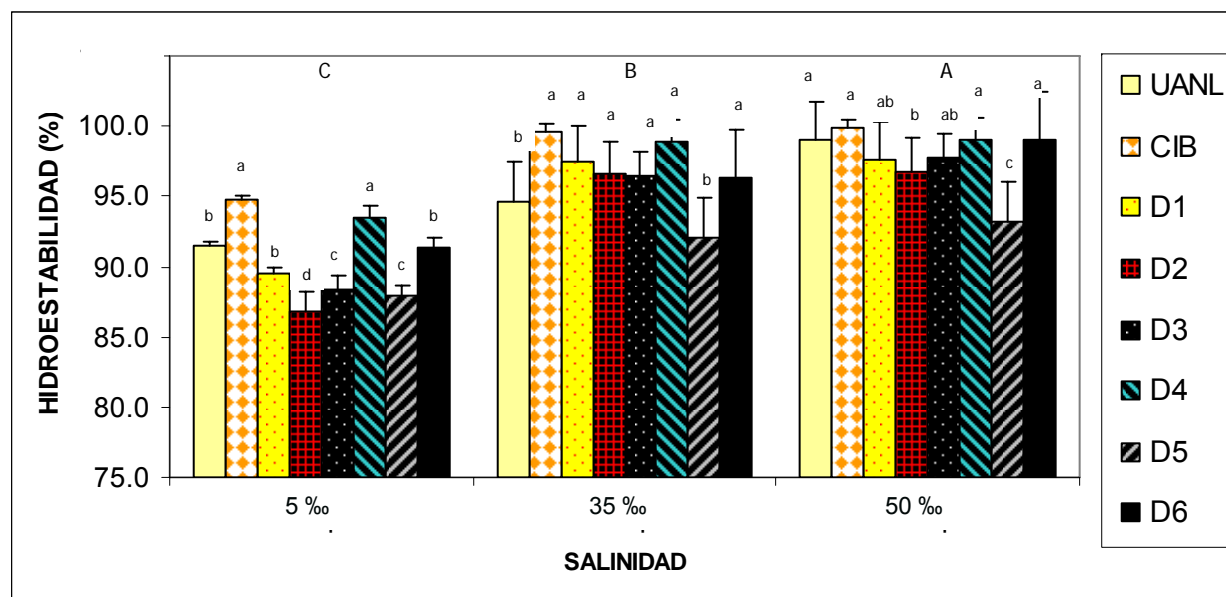


Figura 11. Hidroestabilidad de la materia seca de los alimentos experimentales y comerciales, después de una hora de inmersión en agua a salinidades de 5, 35 y 50 ‰. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P<0.05$).

En general, los alimentos más estables fueron el control CIB y la dieta comercial D4, mientras que los menos estables fueron la D2 y la D5, pero el comportamiento fue variable en función de la salinidad.

Tabla VI. Hidroestabilidad de la materia seca (% \pm Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales después de una hora de inmersión en agua a diferentes salinidades.

Dieta	Salinidad (‰)		
	5	35	50
CIB	94.8 \pm 0.3 ^a	99.6 \pm 0.6 ^a	99.9 \pm 0.1 ^a
UANL	91.5 \pm 0.3 ^b	94.7 \pm 2.7 ^b	99.0 \pm 1.5 ^{ab}
D1	89.5 \pm 0.4 ^{bc}	97.5 \pm 2.6 ^{ab}	97.7 \pm 0.6 ^{abc}
D2	86.8 \pm 1.5 ^d	96.7 \pm 2.3 ^{ab}	96.8 \pm 0.5 ^{bc}
D3	88.4 \pm 1.0 ^{cd}	96.5 \pm 1.7 ^{ab}	97.7 \pm 1.1 ^{abc}
D4	93.5 \pm 0.8 ^a	99.0 \pm 1.5 ^{ab}	99.1 \pm 0.8 ^{ab}
D5	88.0 \pm 0.8 ^{cd}	92.0 \pm 2.8 ^b	93.2 \pm 2.1 ^c
D6	91.4 \pm 0.7 ^b	96.4 \pm 3.4 ^{ab}	99.0 \pm 1.8 ^{ab}

Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

7.1 Digestibilidad de materia seca, proteína, lípidos, carbohidratos y energía.

Los coeficientes de utilización digestiva aparente de materia seca (DAMS) se presentan en la Figura 12 y la Tabla VII. La DAMS de los alimentos evaluados a 5 ‰ varió de 52.1 % con la dieta D5 a 69.6 % con la dieta CIB. A la salinidad de

35 ‰ el menor valor se encontró nuevamente con la D5 (59.4 %) y el mayor con la D4 (71.9 %). A 50 ‰, la menor DAMS correspondió a la dieta D5 (49.1 %), mientras que la mayor se obtuvo con la dieta de referencia UANL (64.1 %). Los valores de DAMS presentan una tendencia a disminuir conforme se incrementa la salinidad del agua de 5 a 50 ‰.

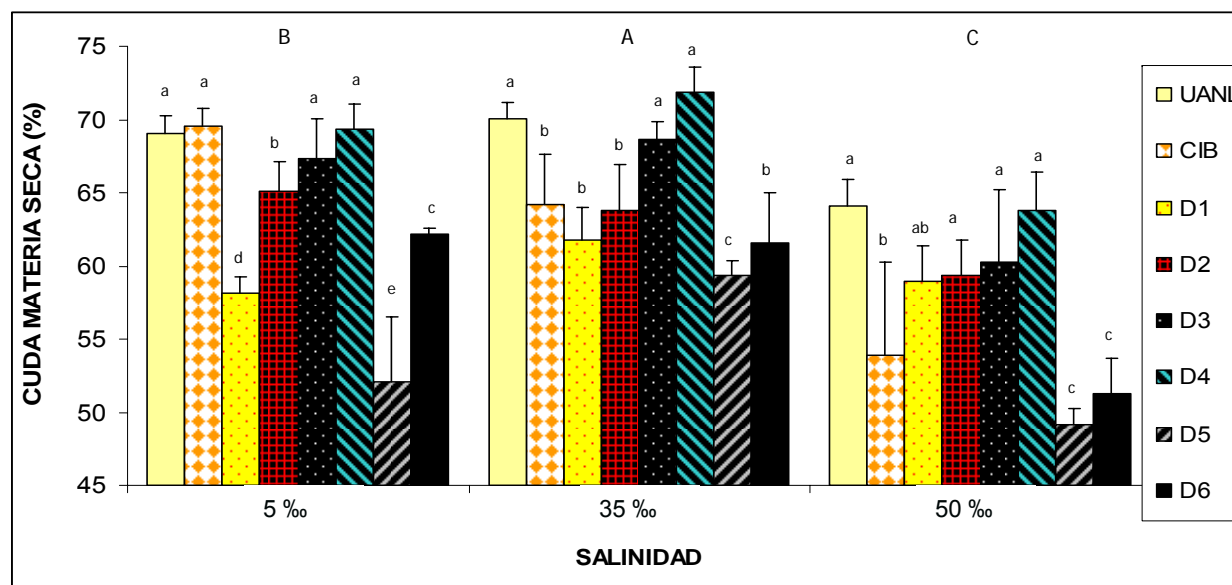


Figura 12. Coeficientes de utilización digestiva aparente de materia seca (DAMS) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla VII. Coeficientes de utilización digestiva aparente (% \pm Desviación Estándar) de materia seca (DAMS) de los alimentos comerciales y experimentales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades.

Dieta	Salinidad (‰)		
	5	35	50
CIB	69.6 \pm 1.2 ^a	64.2 \pm 3.3 ^b	53.9 \pm 3.6 ^{bc}
UANL	69.0 \pm 1.2 ^a	70.0 \pm 1.1 ^a	64.1 \pm 1.8 ^a
D1	58.1 \pm 1.1 ^d	61.8 \pm 2.2 ^{bc}	59.0 \pm 2.4 ^{ab}
D2	65.1 \pm 2.0 ^{bc}	63.8 \pm 3.1 ^b	59.4 \pm 2.4 ^{ab}
D3	67.3 \pm 2.7 ^{ab}	68.6 \pm 1.2 ^a	60.2 \pm 2.8 ^a
D4	69.4 \pm 1.7 ^a	71.9 \pm 1.8 ^a	63.8 \pm 2.6 ^a
D5	52.1 \pm 4.4 ^e	59.4 \pm 1.0 ^c	49.1 \pm 1.0 ^c
D6	62.2 \pm 0.4 ^c	61.6 \pm 3.4 ^{bc}	51.3 \pm 2.4 ^c

Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los coeficientes de utilización digestiva aparente de proteína (DAP) se presentan en la Figura 13 y la Tabla VIII. La DAP de la dieta D2 presenta los coeficientes más altos en las salinidades de 5, 35 y 50 ‰ (83.3, 85.8 y 83.8 %), respectivamente ($P < 0.05$), mientras que las dietas D1 y D5 presentan los valores más bajos a las salinidades de 5 y 35 ‰ (56.9 y 57.7 %; 71.2 y 70.3 %), y la dieta D5 a 50 ‰. La dieta D2 presentó la mejor DAP para los diferentes niveles de salinidad.

El análisis bifactorial indica que el factor dieta depende del nivel de la salinidad del agua. De acuerdo a éste análisis, los valores de DAP significativamente más altos se presentan en el bioensayo a 35 ‰.

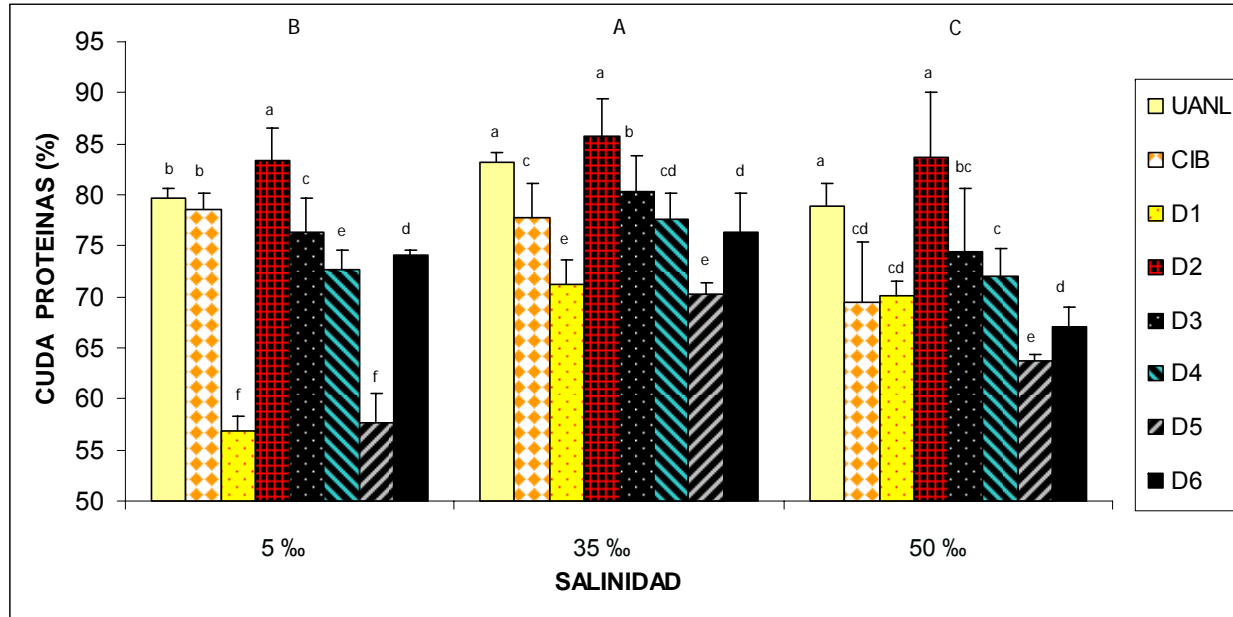


Figura 13. Coeficientes de utilización digestiva aparente de proteína (DAP) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla VIII. Coeficientes de utilización digestiva aparente (% \pm Desviación Estándar) de proteína (DAP) de alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades.

Dieta	Salinidad (‰)		
	5	35	50
CIB	78.6 \pm 1.6 ^{bc}	77.8 \pm 3.3 ^{cd}	69.5 \pm 3.2 ^{cde}
UANL	79.8 \pm 0.8 ^b	83.1 \pm 1.1 ^{ab}	78.9 \pm 2.2 ^{ab}
D1	56.9 \pm 1.4 ^f	71.2 \pm 2.4 ^e	70.2 \pm 1.4 ^{cde}
D2	83.3 \pm 2.0 ^a	85.8 \pm 1.7 ^a	83.8 \pm 2.0 ^a
D3	76.3 \pm 3.3 ^{cd}	80.3 \pm 3.6 ^{bc}	74.4 \pm 3.6 ^{bc}
D4	72.6 \pm 1.8 ^e	77.7 \pm 2.6 ^{cd}	72.0 \pm 2.7 ^{cd}
D5	57.7 \pm 2.9 ^f	70.3 \pm 1.1 ^e	63.8 \pm 0.6 ^e
D6	74.1 \pm 0.4 ^{de}	76.4 \pm 3.7 ^d	67.1 \pm 1.9 ^{de}

Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los coeficientes de utilización digestiva aparente de lípidos (DAL) se presentan en la Figura 14 y la Tabla IX. Los DAL no presentan un efecto por el nivel de salinidad del agua ($P=0.3054$), las diferencias significativas se detectaron únicamente entre dietas ($P < 0.05$). La dieta D3 presenta los coeficientes de DAL más altos (90.1 y 90.6 %) a las salinidades de 5 y 35 ‰ ($P < 0.05$), respectivamente, mientras que a salinidad de 50 ‰ la dieta CIB tuvo una DAL significativamente más baja con respecto a los demás alimentos.

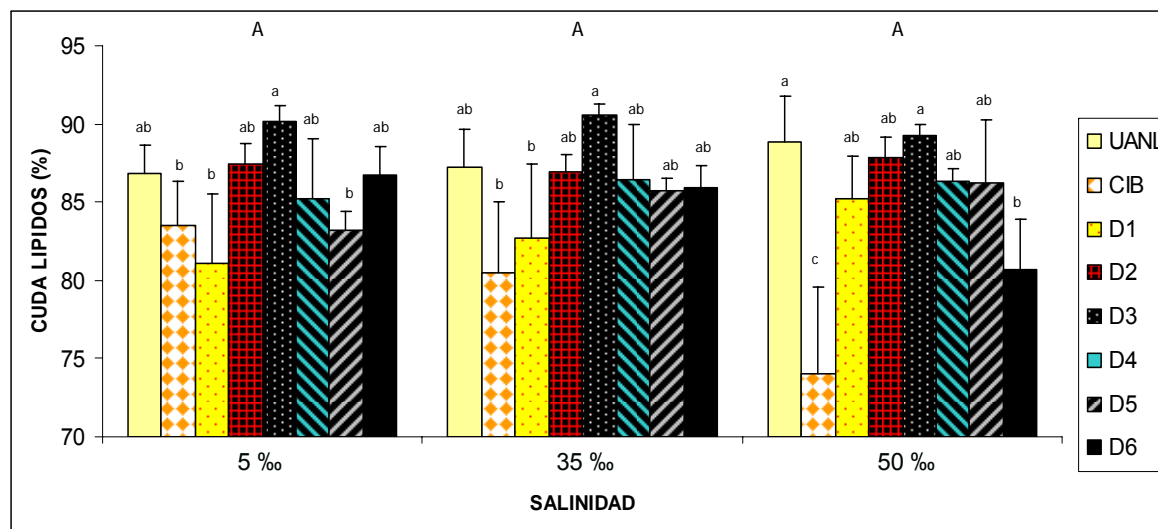


Figura 14. Coeficientes de utilización digestiva aparente de lípidos (DAL) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades. La letra A indica que no se detectaron diferencias significativas entre salinidades ($P=0.2090$). Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P<0.05$).

Tabla IX. Coeficientes de utilización digestiva aparente de lípidos (DAL) (% \pm Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades.

Dieta	Salinidad (‰)		
	5	35	50
CIB	83.5 \pm 2.7 ^a	80.5 \pm 4.4 ^b	74.0 \pm 3.2 ^b
UANL	86.8 \pm 1.8 ^{ab}	87.2 \pm 2.5 ^{ab}	88.8 \pm 2.9 ^a
D1	81.0 \pm 4.4 ^b	82.6 \pm 4.7 ^b	85.2 \pm 1.6 ^{ab}
D2	87.3 \pm 1.4 ^{ab}	86.9 \pm 1.0 ^{ab}	87.8 \pm 1.2 ^a
D3	90.1 \pm 0.9 ^a	90.6 \pm 0.7 ^a	86.1 \pm 3.1 ^a
D4	85.2 \pm 3.7 ^{ab}	86.5 \pm 3.4 ^{ab}	86.2 \pm 0.8 ^a
D5	83.1 \pm 1.2 ^b	85.7 \pm 0.8 ^{ab}	86.2 \pm 2.3 ^a
D6	86.6 \pm 1.8 ^{ab}	86.0 \pm 1.4 ^{ab}	80.7 \pm 1.8 ^{ab}

Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los coeficientes de utilización digestiva aparente de carbohidratos se presentan en la Figura 15 y la Tabla X. Los DACHO no presentan un efecto por el nivel de la salinidad ($P=0.3197$), sin embargo, hubo diferencias significativas entre las dietas ($P < 0.05$). Las dietas D1, D3 y D4 presentan los valores significativamente más altos de DACHO con 89.6, 90.5 y 92.4 %, respectivamente, a la salinidad de 5 ‰, mientras que los alimentos UANL y D4 presentan valores altos (97.3 y 93.7 %) a la salinidad de 35 y 50 ‰. La dieta D1 también tuvo una DACHO alta a 50 ‰. La dieta D6 tuvo bajos valores de DACHO a 35 ‰, y particularmente a 50 ‰,

mientras que con la dieta D2 se obtuvo el valor más bajo con respecto a los demás alimentos a la salinidad de 35 ‰.

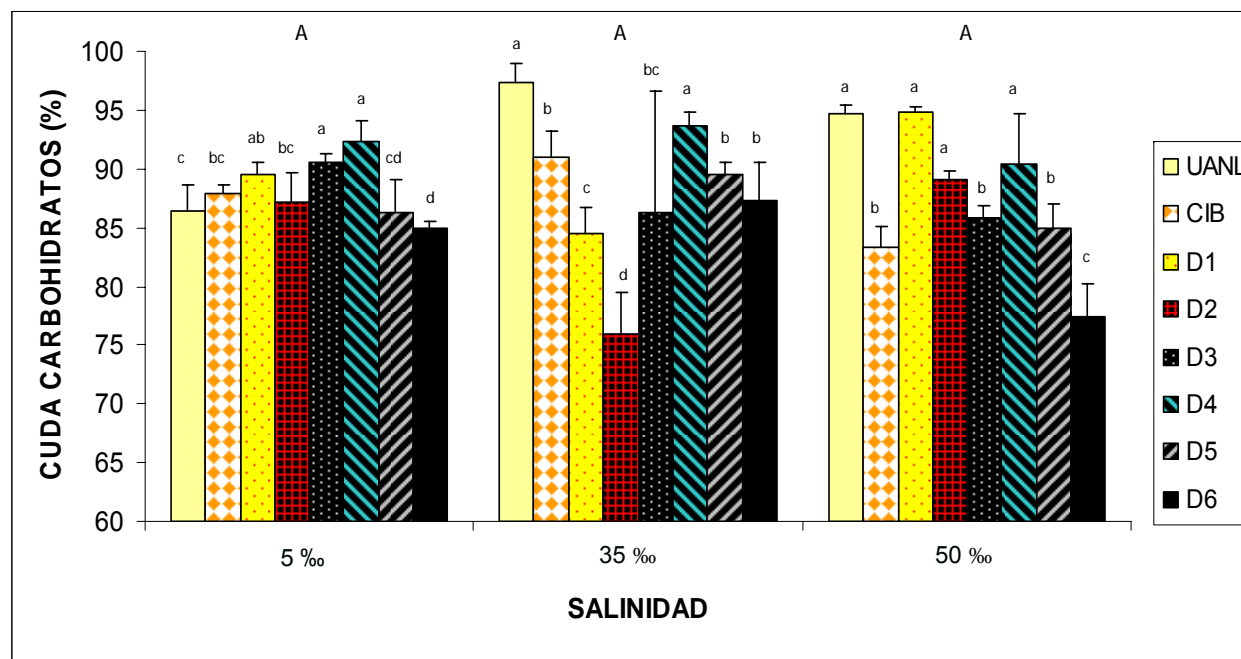


Figura 15. Coeficientes de utilización digestiva aparente de carbohidratos (DACHO) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades. La letra A indica que no se detectaron diferencias significativas entre salinidades ($P=0.7330$). Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P<0.05$).

Tabla X. Coeficientes de utilización digestiva aparente de carbohidratos (DACHO) (% \pm Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades.

Dieta	Salinidad (‰)		
	5	35	50
CIB	87.9 \pm 0.7 ^{bcd}	91.0 \pm 2.2 ^{bc}	83.3 \pm 1.9 ^{bc}
UANL	86.4 \pm 2.1 ^{cd}	97.3 \pm 1.6 ^a	94.7 \pm 0.7 ^a
D1	89.6 \pm 0.9 ^{abc}	84.6 \pm 2.1 ^{cd}	94.9 \pm 0.4 ^a
D2	87.2 \pm 2.5 ^{bcd}	75.9 \pm 3.5 ^d	89.0 \pm 0.7 ^{ab}
D3	90.5 \pm 0.8 ^{ab}	86.3 \pm 5.1 ^{bcd}	85.9 \pm 5.2 ^{bc}
D4	92.4 \pm 1.6 ^a	93.7 \pm 1.0 ^{ab}	90.5 \pm 4.2 ^{ab}
D5	86.3 \pm 2.8 ^{cd}	89.6 \pm 1.0 ^{bc}	85.0 \pm 2.0 ^{bc}
D6	84.9 \pm 0.6 ^d	87.3 \pm 3.1 ^{bc}	77.4 \pm 2.8 ^c

Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los coeficientes de utilización digestiva aparente de energía (DAE) se presentan en la Figura 16 y la Tabla XI. La DAE de la dieta D4 presenta el coeficiente más alto en la salinidades de 5 y 35 ‰ respectivamente ($P < 0.05$), mientras que los tratamientos CIB y D6 (72 % y 70.07 %) presentan valores significativamente más bajos a las salinidades de 5 y 50 ‰. La dieta D2 presentó la mejor DAE para la salinidad de 50 ‰. El análisis bifactorial indica que el factor dieta depende del nivel de la salinidad, es decir, que en cada nivel de salinidad se presentó la

diferencia significativa entre diferentes dietas y hay interacción dieta*salinidad (Anexo, Tabla E).

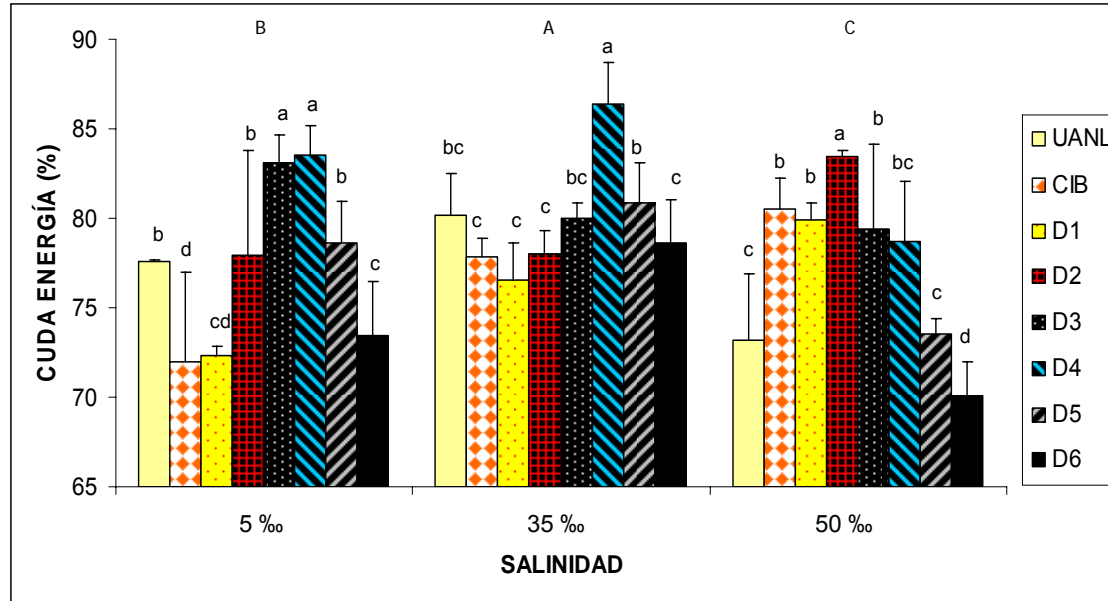


Figura 16. Coeficientes de utilización digestiva aparente de energía (DAE) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades. A, B y C indican diferencias significativas con respecto los niveles de salinidad. Superíndices diferentes sobre las barras, dentro de cada nivel de salinidad, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla XI. Coeficientes de utilización digestiva aparente de energía (DAE) (% \pm Desviación Estándar) de los alimentos experimentales y comerciales en juveniles de *L. vannamei* cultivados a diferentes salinidades.

Dieta	Salinidad (‰)		
	5	35	50
CIB	72.0 \pm 0.1 ^d	77.8 \pm 1.0 ^c	80.5 \pm 1.7 ^b
UANL	77.6 \pm 5.0 ^b	80.1 \pm 2.4 ^{bc}	73.2 \pm 3.7 ^c
D1	72.3 \pm 0.5 ^{cd}	76.5 \pm 2.1 ^c	79.9 \pm 0.9 ^b
D2	77.9 \pm 5.8 ^b	78.0 \pm 1.3 ^c	83.4 \pm 0.4 ^a
D3	83.1 \pm 1.6 ^a	79.9 \pm 1.0 ^{bc}	79.3 \pm 4.7 ^b
D4	83.5 \pm 1.6 ^a	86.3 \pm 2.3 ^a	78.6 \pm 3.4 ^{bc}
D5	78.6 \pm 2.3 ^b	80.8 \pm 2.2 ^b	73.5 \pm 0.9 ^c
D6	73.4 \pm 3.0 ^c	78.6 \pm 2.4 ^c	70.0 \pm 1.9 ^d

Valores promedio con diferente superíndice dentro de cada columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

Las condiciones generales de la evaluación experimental en el presente estudio fueron satisfactorias y cumplen con los estándares definidos para evaluaciones nutricionales en crustáceos (Tacon, 1990; Akiyama *et al.* 1991).

Los alimentos experimentales y comerciales evaluados presentan un contenido proteico de 34 a 37 %. El nivel de lípidos en dietas experimentales fue de 7 a 8 % (CIB y UANL), mientras que en los alimentos comerciales el contenido lipídico fue de 5.5 a 9.5 %. El contenido de energía bruta fue uniforme en 18.1 kJ/g en los alimentos experimentales y comerciales, valores ligeramente bajos con respecto a lo reportado por Cruz-Suárez *et al.* (2002), y similar a dieta comercial para camarón utilizada por Tacon *et al.* (2002).

La selección de ingredientes tiene un impacto directo en la textura, hidroestabilidad, uniformidad, capacidad productiva (extrusión o peletización), factibilidad (costo), y en conjunto, sobre la calidad nutricional del alimento (Bortone, 2002). En el presente trabajo, los resultados de la hidroestabilidad de la materia seca indican que los ingredientes utilizados para la formulación y el método de la fabricación de las dietas experimentales, fueron adecuados. Romero-Álvarez (1995) reportó el efecto del tiempo de lixiviación, temperatura y salinidad del agua sobre lixiviación de nutrientes en alimentos peletizados comerciales, concluyendo que a mayor temperatura, es mayor la pérdida de materia seca, mientras que Cruz-Suárez *et al.*, (2006) indican que a mayor salinidad hay una menor pérdida de materia seca. El tipo de alimento y el nivel de

la salinidad son factores que afectan significativamente la retención de materia seca en alimentos diseñados para el camarón (Obaldo *et al.* 2002). El análisis bifactorial realizado en el presente estudio indica que la salinidad tiene un efecto significativo en la retención de materia seca. A la salinidad de 5 ‰ se obtuvieron valores más bajos de hidroestabilidad con respecto a 50 ‰ debido a las propiedades físico-químicas del agua del mar. En altas salinidades (50 ‰), la concentración de iones como cloruro (Cl^-), bicarbonato (HCO_3^-) y sulfato (SO_4^{2-}), es más alto y no permite lixiviación rápida del alimento balanceado como en agua con baja salinidad (5 ‰).

Cuando se habla de la hidroestabilidad, normalmente se refiere a la pérdida de materia seca y se le considera una característica física de los alimentos, pero es muy importante resaltar que simultáneamente ocurre la pérdida de nutrientes “*lixiviación química*”, especialmente de compuestos solubles como aminoácidos libres, así como también de otros nutrientes, que modifican la composición del alimento, y por ende, puede haber cierto error en la estimación de la digestibilidad. De ahí la importancia de que el alimento sea suficientemente estable en el agua para medir su digestibilidad.

En este trabajo no se llegó a evaluar la lixiviación de los nutrientes por efecto de la salinidad o el tipo de alimento, pero es algo que vale la pena abordar en trabajos futuros. Actualmente ya se están empleando formas microencapsuladas, recubiertas o presentaciones químicas que impiden o minimizan la solubilidad de

los microingredientes en el agua y las pérdidas en el proceso de fabricación, tales como diversos tipos de vitaminas protegidas y los minerales quelados.

La salinidad y la temperatura son dos de los más importantes factores abióticos que afectan el crecimiento y la supervivencia de los organismos acuáticos (Kir *et al.*, 2008). *L. vannamei* habita en aguas con salinidades que oscilan entre 1 y 40 ‰ (Stern *et al.*, 1990), otras especies como *L. setiferus*, *F. aztecus* y *F. duorarum* entre 1 y 47 ‰ (Bray *et al.*, 1994). En los estudios de los camarones peneidos, Mu *et al.* (2005) reportaron que en *Fanneropenaeus chinensis* las fluctuaciones moderadas de la salinidad podrían incrementar el consumo de alimento. Feng *et al.* (2008) reportaron que la frecuencia y amplitud de la fluctuación de la salinidad tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de los juveniles de *L. vannamei* ($P < 0.05$), con efecto en el consumo de alimento y eficiencia de asimilación del camarón.

El balance osmótico en los camarones es modificado debido a que utiliza más energía para osmoregulación y canaliza menos energía para el crecimiento y para compensar el alto requerimiento de energía, los camarones necesitan consumir más alimento (Hurtado *et al.*, 2006). La salinidad puede influenciar a los camarones marinos en varias formas, incluyendo efectos ecológicos y fisiológicos (Bray *et al.*, 1994). En el presente estudio, los valores de DAE se presentaron más altos en la salinidad de 35 ‰ a lo de 5 y 50 ‰ por los razones fisiológicos (gasto de la energía en *L. vannamei* para osmoregular en las salinidades fuera de su punto isosmótico).

Los altos coeficientes de DAMS se presentan en los tratamientos CIB, UANL, D3 y D4 en el bioensayo de 5 ‰; en UANL, D3 y D4 en bioensayo de 35 y 50 ‰, con valores por debajo del 80 %, similares a lo reportado en alimentos comerciales por Cruz-Suárez *et al.* (2002) y a los trabajos realizados con dietas para crustáceos omnívoros (Reigh *et al.* 1990).

Los DAP's mostraron diferencias entre los alimentos comerciales y experimentales; los valores significativamente más bajos se presentan en el bioensayo a 5 ‰ y los valores más altos en el bioensayo a 35 ‰, valores superiores a los reportado en cultivo a 35 ‰ por Cruz-Suárez *et al.* (2002).

Aparentemente, la salinidad óptima para el crecimiento está asociada al metabolismo de proteínas debido a la participación de los aminoácidos libres en la regulación y mantenimiento del volumen celular (Claybrook, 1983). En las altas salinidades marinas, los decápodos son osmoconformadores, adaptan su concentración sanguínea a la del mar. Sin embargo, los que viven en menores salinidades deben mantener una mayor concentración de la sangre que la del medio. El punto isosmótico para *L. vannamei* es alrededor de 30 ‰, por lo que, la osmoregulación a baja y alta salinidad es energéticamente costosa, traducándose a un mayor requerimiento de alimento (proteínas) (Rosas *et al.*, 2001). Gaxiola *et al.* (2005) reportan una interacción de la salinidad de cultivo y el contenido de proteína soluble en la glándula digestiva de juveniles de *L. vannamei*; es posible que ello esté relacionado con la interacción que se ha encontrado en el presente trabajo entre la salinidad y la digestibilidad *in vivo* de las proteínas.

El estrés osmótico producido por salinidades por debajo de 25 ‰ en el langostino *P. muelleri* causa patología grave en el hepatopáncreas (Cuartas *et al.*, 2003), con atrofia y necrosis de las células epiteliales y tejido conectivo hipertrofiado infiltrado por hemocitos en el espacio intertubular, y esto puede influir directamente a la producción de las enzimas proteinasas y la digestibilidad de las proteínas debido a que cada enzima tiene un rango óptimo de pH, salinidad, temperatura, concentración de iones, etc. para funcionar.

El tratamiento D2 presentó los valores significativamente más altos en digestibilidad de proteína (83.3-85.8 %) para los diferentes niveles de salinidad. Valores similares a lo reportado en digestibilidad de proteína evaluando dietas con nivel proteico de 37 % se reportan en *Penaeus monodon* (Vasagam *et al.* 2005).

Los DAL's no se ven afectados significativamente por el nivel de salinidad. Sin embargo, sí se presentan diferencias significativas entre las dietas dentro de cada nivel de salinidad. Goytortúa (1993) reporta valores de DAL de 78,87 % y 84.37 %, en *L. vannamei* alimentado con dietas diferentes niveles de inclusión de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15 %). Los valores de DAL en el presente trabajo fueron superiores al 80 %, similar a lo reportado de Galicia-González (2003) con excepción de la dieta CIB en el bioensayo de 50 ‰. También fueron superiores a lo reportado por Lin *et al.* (2006) en *L. vannamei*. Merican y Shim (1995) y Ramos *et al.* (2001) y indican que el método de preparación de las dietas afectaría la digestibilidad de los lípidos y de ciertos ácidos grasos, causada por la autoxidación de los mismos. Es posible que el aceite de sardina como fuente principal de lípidos

en la dieta CIB hubiese estado en proceso de autoxidación y esto pudo afectar directamente a DAL en 50 %.

La habilidad para utilizar carbohidratos como fuente de energía difiere en peces, camarones y animales terrestres. Peces y camarones parecen utilizar los carbohidratos de forma menos eficiente que otros animales (Guo *et al.* 2006). Una posible explicación es el efecto fisiológico negativo producido por la saturación de glucosa y su alta tasa de saturación en el tracto digestivo (Shiau, 1998). En el presente trabajo se encontraron diferencias de los DACHO's entre los alimentos comerciales y experimentales en cada nivel de salinidad en los bioensayos. Sin embargo, el efecto de la salinidad sobre el DACHO no fue significativo, aunque sí hubo interacción significativa entre las dietas y diferentes salinidades. Cada una de las dietas tiene sus propiedades físico-químicas y a diferentes salinidades se digieren diferente.

La digestibilidad de los carbohidratos puede ser incrementada durante el proceso de elaboración del alimento. El contenido de energía digerible de alimentos extruidos (alta temperatura) puede ser mayor que los peletizados (temperatura menor). Además, ciertas fuentes de carbohidratos como harina de trigo pueden servir como aglutinantes naturales y mejorar la hidroestabilidad del pelet. La extrusión de carbohidratos a altas temperaturas reduce la dependencia de aglutinantes costosos y, como resultado, permite la reducción general del costo de los ingredientes en el alimento.

Los DAE's mostraron diferencias significativas entre los alimentos comerciales y experimentales dentro de cada nivel de salinidad. El análisis bifactorial indicó que

el factor salinidad tiene un efecto significativo. El valor significativamente más bajo se presenta en el bioensayo a 50 ‰, 70.1 % (tratamiento D6) y el valor más alto, 86.4 %, tratamiento D4, en el bioensayo a 35 ‰ y esto se relaciona con el gasto energético del animal a alta salinidad.

El presente estudio muestra que los CUDA's para los nutrientes, materia seca y energía difieren significativamente entre los diferentes tratamientos, y se ha demostrado que la salinidad no tiene un efecto significativo en la digestibilidad de lípidos y carbohidratos. Sin embargo, las diferencias son consideradas en términos de valores de CUDA's, especialmente en materia seca, proteína y energía. El tratamiento D2 presentó la mejor digestibilidad de proteína para los diferentes niveles de salinidad. Debido a que las evaluaciones han sido realizadas en laboratorio, los resultados deberán tomarse con cautela si se pretenden extrapolar a un sistema de producción acuícola comercial. El tracto digestivo en crustáceos en general, y el hepatopáncreas como un órgano crucial en la digestión, es altamente sensible ante cambios fisiológicos y ambientales (salinidad, por ejemplo). En futuros trabajos esto nos podría permitir utilizarlo como un órgano de referencia para evaluar DAMS, DAP, DAL, DACHO y DAE *in vivo* en *L. vannamei* cultivado en diferentes salinidades.

9. CONCLUSIONES

- Los alimentos presentaron una hidroestabilidad de materia seca significativamente superior a la salinidad de 50 ‰, con respecto a la de 35 ‰, y ésta última con respecto a la de 5 ‰.
- La salinidad, como un factor abiótico limitante para crustáceos, mostró un efecto significativo en la digestibilidad de materia seca, proteína y energía, obteniéndose los valores más elevados en la salinidad de 35 ‰.
- La salinidad no tuvo un efecto significativo sobre la digestibilidad de carbohidratos y de lípidos, pero el análisis de varianza bifactorial mostró que sí hubo una interacción significativa entre las dietas y la salinidad.

10. PERSPECTIVAS

Una de las líneas importantes de investigación de la digestibilidad *in vivo* es sin duda la que incluye la formulación de las dietas sustentables y digeribles (sustitución de la harina de pescado). En primera instancia se encuentra la necesidad de encontrar nuevos insumos que permitan que las formulaciones cubran todos los requerimientos nutricionales, en especial los requerimientos en aminoácidos. En este contexto se deberán realizar investigaciones en las que se enriquezcan las fuentes de proteína alternativa por ejemplo concentrados proteicos de diferente origen y aminoácidos sintéticos. Por otro lado, las nuevas dietas formuladas deberían ser altamente digerible en diferentes salinidades y temperaturas de medio ambiente.

Es posible realizar una investigación que en el mismo tiempo involucrará el análisis de las enzimas digestivas y la digestibilidad *in vivo* de aminoácidos en bajas y altas salinidades usando dietas formuladas con una menor cantidad de ingredientes de origen animal no solo por las razones ecológicas sino por el alto costo del las proteínas de este tipo.

11. REFERENCIAS

Abimorad, E.G., Squassoni, G.H., Carneiro, D.J. (2008) Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture nutrition* 14: 374-380.

Álvarez, A.L., Racotta, I.S., Arjona, O., Palacios, E (2004) Salinity stress test as a predictor of survival during growout in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 237: 237-249.

Akiyama, D.M., Dominy, W.G., Addison, L.L. (1991) Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry, pp 80-98. In: D.M. Akiyama y Tan R.K. (Eds). Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. September 19-25, 1991. *American Soybean Association*. Singapore.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist) (1995) *Official Methods of Analysis*. AOAC, Inc., Washington, D.C, 1234 pp.

Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.

Bortone, E. (2002) Interacción de ingredientes y procesos en la producción de alimentos hidroestables para camarones. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

Bouaricha, N., Thuet, P., Charmantier-Daures, M., Trilles, J.P. (1991) Na-K ATPase and carbonic anhydrase activities in larvae, postlarvae and adults of

the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda Penaeidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 100A: 433-437.

Bouaricha, N., Charmantier-Daures, M., Thuet, P., Trilles, J.P., Charmantier, G. (1994) Ontogeny of osmoregulatory structures in the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda Penaeidea). *Biol. Bull.* 186: 29-40. Bray, Wa.,

Lawrence, Al. and Leung-Trujillo, Jr. (1994) The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHN virus and salinity: *Aquaculture* 122 (2-3): 133-146.

Brito, R., Chimal, Rosas, C. (2000) Effect of salinity in survival, growth y osmitic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda; penaeidae). *Journal Experimental Marine Biology y Ecology* 244: 253-263.

Cabanillas-Beltrán, H., Ponce-Palafox, J.T., Martínez-Palacios, C.A., Chávez-Sánchez, Ma.C., Ross, L.G. (2001) Comparison of digestibility of diets based on fish meal and soybean meal in *Litopenaeus vannamei* Boone 1931, using different temperatures and salinities for culture. *Ciencias Marinas* 27 (4): 577- 593.

Campaña-Torres, A., Martínez-Córdova, L.R., Villarreal-Colmenares, H., Civera-Cerecedo, R. (2005) *In vivo* dry matter and protein digestibility of three plant-derived and four animal-derived feedstuffs and diets for juvenile Australian redclaw, *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* 250: 748-754.

Campaña-Torres, A., Martínez-Córdova, L.R., Villarreal-Colmenares, H., Civera-Cerecedo, R. (2008) Carbohydrate and lipid digestibility of animal and vegetal ingredients and diets for pre-adult Australian redclaw crayfish,

Cherax quadricarinatus (Von Martens). *Aquaculture research* 39 (10): 1115-1121.

Carrillo, O., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Gallardo, N. (2000) Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón. In: Cruz – Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre (2000) Mérida, Yucatán., Mexico.*

Civera, R. and Guillaume, J.C. (1989) Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralisation of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 77: 145-156.

Chamberlain, G. (1995) Frontiers in shrimp nutrition research. In: Browdy, C., Hopkins, S. (Eds.), *Swimming Through Troubled Water Proceedings of the World Aquaculture Society, San Diego California, February 1–4, 1995*, pp. 108-114.

Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Bouaricha, N., Thuet, P., Aiken, D.E., Trilles, J.P. (1988) Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two Decapod Crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole* 175: 102-110.

Cheng, K.M., Hu, C.Q., Liu, Y.N., Zheng, S.X., Qi, X.J. (2005) Dietary magnesium requirement and physiological responses of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. *Aquaculture Nutrition* 11 (5): 385-393.

Cheng, K.M., Hu, C.Q., Liu, Y.N., Zheng, S.X., Qi X.J. (2006) Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. *Aquaculture* 251 (2-4): 472-483.

Cho, C.Y. and Slinger, S.J. (1979) Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Hamburg 20-23 June, 1978. Vol. II. Berlin, pp. 241-245.

Claybrook, D. L. (1983) Nitrogen metabolism. In: L.H.,M. (Ed.), The Biology of Crustacea, Internal anatomy and physiological regulation., Vol. 5, Academic Press, New York, pp. 163-213.

Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., Civera, C.R., Martínez, C. L. (2003) Effect of dietary protein level on growth and survival of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture Nutrition* 9 (4): 207-213.

Cousin M. (1995) Etude de l'utilisation des glúcides et du rapport proteines-energie chez deux especes de crevettes penaeides: *Penaeus vannamei* et *Penaeus stylirostris*. PhD. Dissertation Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. 209 pp.

Cruz-Suárez, L.E. (2000) Digestión en camarón y su relación con la formulación y fabricación de alimentos balanceados. *Avances de nutrición acuícola III*: 207- 232.

Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Marín, M., Guajardo-Barbosa, C., Nieto-López, M.G., Salinas-Millar, A. (2002) Historia

y Estatus Actual de la Digestibilidad y Algunas Características Fisicoquímicas de los Alimentos Comerciales para Camarón Usados en México. pp. 1-22. En: L. Elizabeth Cruz Suárez *et al.* *Avances en nutrición acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3-6 Septiembre, 2002. Cancún, Q.R. México.

Cruz-Suárez, L.E., Ruiz-Díaz, P.P., Cota-Cerecer, E., Nieto-López, M.G., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., Villarreal-Cavazos, D., Ricque-Marie, D. (2006) Revisión sobre Algunas Características Físicas y Control de Calidad de Alimentos Comerciales para Camarón en México. En: Editores: L. Elizabeth Cruz-Suárez *et al.* *Avance en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 970-694-333-5.

Cuartas, E. I., Díaz, A. C., Petriella, A. M. (2003) Modificaciones del hepatopáncreas del langostino *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Penaeoidea) por efecto de la salinidad. *Biociencias, Porto Alegre*, 11(1): 53-59.

DeWalt, B.R., Ramírez, Z.J.R., Noriega, L., González, R.E. (2002) Shrimp aquaculture, the people and the environment in coastal Mexico. Report prepared under World Bank, NACA, WWF y FAO Consortium program on shrimp farming and the environment. Work in Progress for Public Discussion. 73 p.

FAO/NACA/UNEP/WB/WWF. (2006) International Principles for Responsible Shrimp Farming. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA). Bangkok, Thailand, 20 pp.

FAO (2007) El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación, Roma, 198 pp.

FAO Servicio de Información y Estadísticas de Pesca y Acuicultura (2008) Producción de acuicultura 1950-2006. FISHSTAT Plus: Programa informático universal para series cronológicas de estadísticas pesqueras [en línea o CD-ROM]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en: <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>

Feng, C., Tian, X., Dong, S., Su, Y., Wang, F., Ma, S. (2008) Effects of frequency and amplitude of salinity fluctuation on the growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture research*: 1-8.

Fox, J. M., Davis, D.A., Wilson, M., Lawrence, A.L. (2006) Current status of amino acid requirement research with marine penaeid shrimps. En: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega. Avance en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 970-694-333-5.

Furukawa, A. and Tsukahara, H. (1966) On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries* 32: 502-506.

Galicia-González, A. (2003) Utilización de hidrolizado de langostilla (*Pleuronectes planipes*) como aditivo en alimentos para juveniles del camarón (*Litopenaeus vannamei*). Tesis Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S., México. 140 pp.

García-Galano, T. (2006) Proteínas. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica., Mexico, pp. 128-142.

Gaxiola, G., Cuzon, G., Garcia, T., Tabeada, G., Brito, R., Chimal, M.E., Paredes, A., Soto, L., Rosas, C., van Wormhoudt. (2005) A Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) *Comparative biochemistry and physiology a-molecular & integrative physiology* 140 (1): 29-39.

Glencross, B.D., Smith, D.M., Tonks, M.L., Tabrett, S.J., Williams, K.C. (1999) A reference diet for nutritional studies of the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *Aquaculture Nutrition* (5): 33-39.

Guillaume, J. and 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.

Goytortúa-Bores, E. (1993). Evaluación de la digestibilidad de dietas compuestas a base de harina de langostilla (*Pleuronectes planipes*) y su efecto en el crecimiento en el camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Tesis

ingeniero en alimentos. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas. México. 112 pp.

Guo, R., Liu, Y.-J., Tian, L.-X., Huang, J.-W. (2006) Effect of dietary cornstarch levels on growth performance, digestibility and microscopic structure in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in brackish water. *Aquaculture Nutrition* 12 (1): 83-88.

Isiordia-Pérez, E., Puello-Cruz, A., D' Abramo, L. y González-Vega, H. (2006) Evaluación de la actividad enzimática y contenido de proteína en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 04, Abril/2006, Veterinaria.org ® - Comunidad Virtual Veterinaria.org ® - Veterinaria Organización S.L. ® España.

Hurtado, M.A., Racotta, I.S., Arjona, O., Hernández-Rodríguez, M., Goytortúa, E., Civera, R., Palacios, E. (2006) Effect of hypo-and hyper-saline conditions on osmolarity and fatty acid composition of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) fed low- and high-HUFA diets. *Aquaculture Research* 37: 1316-1326.

Kir, M. and Kumlu, M. (2008) Effect of temperature and salinity on low thermal tolerance of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda:Penaeidae). *Aquaculture Research* 39: 1101-1106.

Knutsen, I. and Salvanes, A.G.V. (1999) Temperature-dependent digestion handling time in juvenile cod and possible consequence for prey choice. *Mar-Ecol-Prog-Ser* 181: 61-79.

Koprucu, K. and Ozdemir, Y. (2005) Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 250: 308-316.

Lee, P.G. and Lawrence, A.L. (1997) Digestibility. *Advances in world Aquaculture VI*: 194-260.

Lin, H.Z., Li, Z.J., Chen, Y.Q., Zheng, W.H., Yang, K. (2006) Effect of dietary traditional Chinese medicines on apparent digestibility coefficients of nutrients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture* 253 (1-4): 495-501.

López, M.G.N. (2005) Técnica de digestibilidad *in vitro* en ingredientes y alimentos camarón. *CIENCIA UANL / VOL. VIII*, No. 1: 65-73.

Martínez-Córdova L.R., Villareal H., Porchas-Cornejo M., Naranjo-Paramo J., Aragon-Noriega A. (1997) Effect of aeration on growth, survival and yield of white shrimp *Penaeus vannamei* in low water exchange ponds. *Aquaculture Engineering* 16: 85-90.

Martínez-Córdova, L.R., Villarreal-Colmenares, H., Porchas-Cornejo, M.A. (1998) Response of biota to aeration rate in low water exchange ponds farming white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone. *Aquaculture Research* 29 (8): 587-593.

Martínez-Córdova, L.R., Villarreal-Colmenares, H., Cortés-Jacinto, E. (1999). Biología del camarón. *En*: L.R. Martínez-Córdova (editor). Cultivo de camarones peneidos: principios y prácticas. AGT Editor, S.A. México, D.F. 1-21 p.

Martínez-Córdova, L.R. and Peña-Messina. (2005) Biotic communities and feeding habits of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson 1974) in monoculture and polyculture semi-intensive ponds. *Aquaculture Research* 36: 1075-1084.

Merican, Z.O., and Shim, K.F. (1995) Apparent digestibility of lipid and fatty acids in residual lipids of meals by adult *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 133: 275-286.

Mu, Y., Wang, F., Dong, S.L., Dong, S.S. (2005) The effects of salinity fluctuation in different ranges on the intermolt period and growth of juvenile *Fenneropenaeus chinensis*. *Acta Oceanologica Sinica* 24: 141-147.

Murphy, J. and Riley, J. (1962) A modified single solution for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* v: 2731-36.

Obaldo, L. G., Divakaran, D., Tacon, G.A. (2002) Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. *Aquaculture Research* 33: 369-377.

Peres, H. and Oliva-Teles, A. (1999) Influence of temperature on protein utilization in juvenile European seabass (*Disentrarchus labrax*). *Aquaculture* 170 (3-4): 337-348.

Pérez-Farfante, I. and Kensley, B. (1997) Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. Keys and diagnoses for the families and genera. *Memoires du Museum National d'Historie Naturelle, Paris, France*. 233 pp.

Ponce-Palafox, J., Martínez-Palacios, C.A, Ross, L.G. (1997) The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture* 157(1-2): 107-115.

Palacios, E., Bonilla, A., Luna, D., Racotta, I. S. (2004) Survival, Na⁺/K⁺-ATPase and lipid responses to salinity challenge in fed and starved white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae. *Aquaculture* 234: 497–511.

Pascual, C., Rodríguez, T., Rosas, C. (2006) Inmunidad y Nutrición. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica., Mexico. pp. 294-318.

Ramos, R.D., Valdés, I.M., Molina-Segovia, C. (2001) Consumo y digestibilidad aparente de tres ingredientes marinos locales incorporados en dietas prácticas para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Estud. Oceanol.* 20: 43-50.

Reigh, R.C., Braden, S.I., Craig, R.J. (1990) Apparent digestibility coefficients for common feedstuffs in formulated diets for red swamp crayfish, *Procambarus-clarkii*. *Aquaculture* 84 (3-4): 321-334.

Robertson, L., Lawrence, A.L., Castille, F. (1993) Interaction of salinity and feed protein level on growth of *Penaeus vannamei*. *J. Applied Aquaculture* 2 (1): 35-55.

Romero-Álvarez, R.M. (1995) Tesis: Efecto de la temperatura, salinidad y tiempo de inmersión sobre la estabilidad de tres alimentos peletizados para camarón. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas.

Rosas, C., Cuzón, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., van Wormhoudt, A. (2001) Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates,

nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linné) juveniles (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture Research* 32: 531-547.

Rosas C., Cuzon G., Gaxiola G., Le Priol Y., Pascual C., Rossignol J., Contreras F., Sanchez A., van Wormhoudt, A. (2001) Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259: 1-22.

Samocha, T., Guajardo H., Lawrence, A.L., Castille, F.L., Speed, M., McKee, D.A., Page, K. (1998) A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture* 165 (3-4): 233-242.

Saoud, I.P., Davis, D.A., Rouse, D.B. (2003) Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. *Aquaculture* 217 (1-4): 373-383.

Shiau, S. Y. (1998) Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture* (164): 77-93.

Stern, S., Daniels, H., Letellier, E. (1990) Tolerance of postlarvae and juvenile *P. vannamei* to low salinity. Proceedings of Annual Meeting of the World Aquaculture Society, Halifax: WAS. 103 pp.

Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. (1972) A practical handbook of seawater analysis. *Fish. Res. Bd. Canada bulletin* 167: 311 pp.

Tacon, A.G.J. (1990) Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. *Argent Laboratories Press*: 208 pp.

Tacon, A.G.J. (1996) Nutritional studies in crustaceans and the problems of applying research findings to practical farming systems. *Aquaculture Nutrition*, 1: 165-174.

Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster I.P., and Decamp, O.E. (2002) Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition* 8: 121-137.

Tantulo, U. and Fotedar, R. (2007) Osmo and ionic regulation of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius 1798) juveniles exposed to K⁺ deficient inland saline water at different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 146: 208–214.

Vega-Villasante, F. y Chong-Carrillo, O. (2006) El Dicamarón, diccionario de camaronicultura. Segunda Edición en papel. Universidad de La Habana y Universidad de Guadalajara (eds.). 123 pp. ISBN 970-27-0969-5.

Pérez-Velazquez, M.P., González-Félix, M.L., Jaimes-Bustamente, F., Martínez-Córdova, L.R., Trujillo-Villalba, D.A. (2007) Investigation of the effects of the salinity and dietary protein level on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 38: 475-485.

Yan, B.L., Wang, X., Mei, C. (2007) Effects of salinity and temperature on survival, growth, and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of shellfish research* 26 (1): 141-146.

Zar, J.H. (1996) Biostatistical Analysis. Prentice Hall, New Jersey. 663pp.

12. ANEXO

Tabla A. Análisis de varianza bifactorial para los valores de DAMS (los datos en porcentaje fueron transformados al arco-seno).

	SS	DF	MS	F	p
Intercepto	176142.1	1	176142.1	183318.8	0.0000
DIETA	256.4	7	36.6	38.1	0.0000
SALINIDAD	120.4	2	60.2	62.6	0.0000
DIETA*SALINIDAD	55.8	14	4.0	4.1	0.0000
Error	61.5	64	1.0		

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$). SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: suma de medias

Tabla B. Análisis de varianza bifactorial para los valores de DAP (los datos en porcentaje fueron transformados al arco-seno).

	SS	DF	MS	F	p
Intercepto	209924.7	1	209924.7	261306.3	0.0000
DIETA	399.5	7	57.1	71.0	0.0000
SALINIDAD	68.5	2	34.2	42.6	0.0000
DIETA*SALINIDAD	92.2	14	6.6	8.2	0.0000
Error	51.4	64	0.8		

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$). SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: suma de medias

Tabla C. Análisis de varianza bifactorial para los valores de DAL (los datos en porcentaje fueron transformados al arco-seno).

	SS	DF	MS	F	p
Intercepto	241595.8	1	241595.8	277990.4	0.0000
DIETA	69.7	7	10.0	11.4	0.0000
SALINIDAD	2.8	2	1.4	1.6	0.2090
DIETA*SALINIDAD	30.6	14	2.2	2.5	0.0064
Error	55.6	64	0.9		

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en caso de la salinidad. SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: suma de medias

Tabla D. Análisis de varianza bifactorial para los valores de DACHO (los datos en porcentaje fueron transformados al arco-seno).

	SS	DF	MS	F	p
Intercepto	249261.7	1	249261.7	255306.4	0.0000
DIETA	85.5	7	12.2	12.5	0.0000
SALINIDAD	0.6	2	0.3	0.3	0.7330
DIETA*SALINIDAD	114.8	14	8.2	8.4	0.0000
Error	62.5	64	1.0		

No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en caso de la salinidad. SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: suma de medias

Tabla E. Análisis de varianza bifactorial para los valores de DAE (los datos en porcentaje fueron transformados al arco-seno).

	SS	DF	MS	F	p
Intercepto	58.39245	1	58.39245	33730.22	0.0000
DIETA	0.02379	2	0.01190	6.87	0.0024
SALINIDAD	0.13439	7	0.01920	11.09	0.0000
DIETA*SALINIDAD	0.13990	14	0.00999	5.77	0.0000
Error	0.08310	48	0.00173		

Se encontraron diferencias significativas ($P<0.05$). SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: suma de medias