



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**SUSTITUCIÓN DE HARINA DE PESCADO POR HARINA DE SOYA
EN LA DIETA DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)
PARA LA REDUCCIÓN DE DESCARGA DE FÓSFORO (P)
Y NITRÓGENO (N) EN AGUAS RESIDUALES.**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L O G O
P R E S E N T A :
AGUSTÍN CARLOS CRUZ CASTRO**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**



Tlalnepantla, Estado de México

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

*A mis padres, Angela y Ubaldo por todo su apoyo,
Por llenarme la vida de alegría, dándome todo su amor y cariño desde el primer día.*

*A Maguie, mi hermana,
Por hacerme compañía en buenos y malos momentos.*

*A Verónica, el Ángel que llegó a mi vida,
Mi peke, te amo.*

*"Los peces forman sus escuelas
Justo donde empieza el cielo,
Desconocen la muerte y no son eternos,
Hablan con su lenguaje en una burbuja
Y con su boca que huele a muerte...
A un pez le invade la tristeza y
Nadie nota su llanto."*



*"El sabio como astrónomo. - Mientras
continúes sintiendo las estrellas como un
"por-encima-de-ti" sigue faltándote la
mirada del hombre de conocimiento."*

F. Nietzsche

AGRADECIMIENTOS

A la vida, por presentarme a las personas y vivencias indicadas para que yo llegue a este momento.

A mi familia; mis padres, Angela y Ubaldo, que me han amado y apoyado todo el tiempo, me han dado los principios y el ejemplo para lograr todas mis metas, por confiar en mí, en mis decisiones y proyectos, porque todo lo que soy es gracias ellos. A mi hermana Margarita, por acompañarme y apoyarme, por ser una gran amiga, por sus locuras y vivencias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México sin duda la más grande institución, porque en ella encontré la vía del conocimiento.

A mi director de Tesis, Dr. Luis Héctor Hernández Hernández por el apoyo y la confianza para la elaboración de esta tesis.

A mis asesores; M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza, por enseñarme el valor del conocimiento y sobre todo su aplicación en la vida. Al biólogo Omar Ángeles López, por su tiempo, comentarios y apoyo durante mi estancia dentro del Acuario, por su amistad. A la M. en C. Alba Márquez por involucrarme de manera científica con el mundo de los peces. A la M. en C. Teresa Ramírez por sus oportunos comentarios y observaciones en mi trabajo.

A mis amigos Manuel, por todos los momentos de estrés, y apoyo durante la carrera, las pláticas y buenos y malos consejos que me ayudaron mucho, por brindarme tu amistad. A Juan Rafael, por ser camarada en el trabajo y en diversos proyectos dentro y fuera del Acuario, por el apoyo en la realización de mi tesis y en los buenos pero sobre todo los malos momentos.

Nury, mil gracias por todo el apoyo y comprensión,, por los maravillosos momentos que hemos compartido y que han ayudado a formar un futuro juntos, por la confianza que tienes en mi y que has inculcado en mi, por ser mi amiga, mi confidente, mi peke TE AMO.

Gracias a todas las personas que me apoyaron durante la carrera que estuvieron y están conmigo, por su amistad.

CONTENIDO

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	6
Objetivos.....	9
Materiales y método.....	10
Resultados.....	16
Discusión.....	24
Conclusiones.....	27
Referencias.....	28

RESUMEN

En la actualidad el cultivo de trucha arco iris es una actividad económicamente importante en México, pues en América Latina se encuentra entre los primeros países productores; sin embargo, para sostener este desarrollo, se requiere reducir costos de producción y las concentraciones de fósforo y nitrógeno en aguas residuales; por esto se deben considerar fuentes alternativas de proteína y las harinas vegetales son una buena opción por su alto contenido proteico. Por esto se plantea la utilización de harina de soya para la formulación de dietas y la reducción en la descarga de N y P. Se sustituyó la harina de pescado en concentraciones de 50, 75 y 100% además de utilizar una dieta control con 100% harina de pescado y una dieta comercial, también se agregó fitasa en las dietas, a excepción de una dieta más con 100% de harina de soya Posteriormente se realizaron las pruebas de alimentación en donde se encontró que la dieta con 75% de sustitución, reflejó un crecimiento de 203%, similar al obtenido por los controles; además en el caso de amonio esta dieta tuvo un valor menor a el control de dieta comercial (0.53 mg/l/h), y en la excreción de fosfatos, la dieta con 75% de sustitución tuvo un valor cercano a 0.40 mg/l/h, menor a los controles. Todos estos datos nos reflejan que la dieta con 75% de sustitución es la más eficiente para la alimentación de juveniles de trucha arco iris pues no se reduce el crecimiento y se logra disminuir las descargas de elementos contaminantes a las aguas residuales de los sistemas de cultivo.

Palabras clave: Trucha arco iris, soya, dietas, sustitución, amonio, fosfatos, fitasa.

INTRODUCCIÓN

En la última década, la producción de la acuicultura constituye un aporte importante de la demanda de peces y otros organismos acuáticos para consumo humano. Así, en el 2002 la contribución de la acuicultura fue del 30 % del total consumido, y se calcula que en el 2015 podría llegar hasta al 41 %. Este aumento en la producción acuícola puede estar limitado por el alimento requerido para sostener estos incrementos. (FAO, 2006).

México se encuentra entre los primeros países de Latinoamérica en producción acuícola; en el 2002 se obtuvieron más de \$3,309 millones de pesos por acuicultura, con una producción de 45,853 t de camarón blanco, 91,434 t de peces de agua dulce (mojarra, bagre, carpa, trucha, lobina y charal) y 48,878 t de ostión. Esta cantidad equivale a 0.2% del Producto Interno Bruto nacional, pero representa cerca de 1% del PIB si se toman en cuenta la industrialización y comercialización de los productos, además México se identifica como un país con gran potencial de desarrollo acuícola debido al clima, recursos naturales y especies nativas con potencial de cultivo (CONAPESCA, 2004).

De manera particular la producción de trucha arcoíris se sustenta en aproximadamente 251 sistemas acuaculturales distribuidas en 21 entidades federativas, de las cuales las de mayor producción son México, Puebla y Michoacán, y que hasta el año 2003 se produjeron de 7,727 toneladas, con un valor de \$107,233 millones de pesos y con un costo de producción relativamente alto (INAPESCA, 2007).

Para poder sostener este desarrollo en la producción acuícola, se requieren dietas nutricionalmente balanceadas que para el caso de especies de salmónidos y otros peces carnívoros representan entre el 40 y 50% de los costos operacionales en el cultivo de salmónidos (Vega, 1990). Esto es atribuido a la harina de pescado como principal materia prima de los alimentos comerciales

(Hardy, 1988), debido a que es una fuente de aminoácidos esenciales y de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, requeridos por los peces (Guillaume y Métailler, 1999).

El alto costo de las fuentes proteicas determinan el precio del alimento por lo cual se deben considerar fuentes alternativas de proteína y las harinas vegetales son una buena opción debido a su alto contenido proteico y energético, bajos costos relativos y disponibilidad en el mercado; asimismo realizando un sistema adecuado de procesamientos, se puede obtener un insumo de alto valor proteico con una buena disponibilidad biológica de aminoácidos y alta concentración energética (Vergara *et al.*, 1998).

Estudios previos, sobre el reemplazo parcial o total de la harina de pescado en la dieta de la trucha arco iris, proponen la posibilidad de sustituir hasta un 66% de contenido de proteína animal por proteínas de origen vegetal, sin causar efectos negativos en el crecimiento de los animales (Kaushik, 1995). Sin embargo, los niveles de sustitución pueden variar mucho en función de la especie y la composición de la dieta. Algunas fuentes vegetales incluidas en las dietas de peces cultivados, contienen una variedad de sustancias “antinutricionales” que interfieren en el aprovechamiento del alimento. Además de ser deficientes en algunos aminoácidos, por lo que la formulación de las dietas debe compensar posibles desequilibrios en la proporción de aminoácidos (Clarke y Wiseman, 2000).

En algunos casos, el aumento de aminoácidos en la dieta podría ser un factor del incremento de la excreción de amonio de los animales, debido a que el ácido glutámico puede ser utilizado como sustrato para la formación endógena de arginina a través del ciclo de la urea, incrementando la formación de amonio (Buentello y Gatlin, 2001).

Otro componente de las dietas y en general de los sistemas de cultivo acuícola con gran importancia nutricional es el fósforo (P), mineral requerido para el crecimiento, mineralización de los huesos, reproducción, síntesis de ácidos nucleicos y de la estructura de fosfolípidos, así como el metabolismo; por otro lado el fósforo es un nutriente importante para el crecimiento de microorganismos en el ambiente acuático y puede contribuir al crecimiento excesivo de algas (Orhan, 2006).

Se ha estimado en diferentes regiones, organismos y sistemas de cultivo, que más del 60% del fósforo y el 80% del nitrógeno, aportado por los desechos de las especies cultivadas, termina finalmente, en la columna de agua. Estos cambios en la columna de agua incluyen alzas en los niveles de nutrientes (N y P); aumento en la materia orgánica disuelta; una reducción de la concentración de oxígeno disuelto; alteración del pH, de los niveles de conductividad y transparencia de agua, así como alteraciones en los ciclos normales de los nutrientes (Bschmann, 2001).

Una alternativa para la reducción de la descarga de fósforo al medio ambiente es la utilización de enzimas fitasas pues estas ayudan a mejorar la asimilación en el consumo de fósforo y la digestibilidad de algunos aminoácidos (Rutherford *et al*, 2002). El uso de estas enzimas se ha utilizado en mayor medida en la producción de ganado porcino y de aves de corral en los cuales se ha demostrado que las concentraciones de fosfatos en los desechos de las granjas han reducido hasta un 60 %, aumentando la digestibilidad de proteínas y la asimilación de algunos minerales (Hasan, 2005).

Por estas razones se plantea la utilización de harina de soya para la formulación de dietas, pues es una fuente importante de nutrientes, principalmente proteínas, vitaminas, aceites vegetales, carbohidratos, minerales y oligoelementos diversos, además de que la producción norteamericana de soya se sigue proyectando en 83.82 millones de toneladas y los inventarios al cierre del

año agrícola 2006/2007 se calcularon en 17.82 millones de toneladas, ligeramente arriba de la cifra prevista y en comparación a otros años, el crecimiento en la oferta ha sido moderado debido a que Argentina y Brasil mantendrán su producción casi sin cambios. Así mismo, se establece que la producción mundial de pasta de soya podría alcanzar las 148.82 millones de toneladas y el aceite de soya las 34.64 millones de toneladas, 6 millones y un millón más respectivamente, y en el caso particular de México se ha reportado que hasta el mes de diciembre del 2007 se cosecharon 34 mil 48 toneladas, volumen 46% menor al ciclo anterior, presentando como perspectiva a futuro una reducción constante de la producción de soya en el país, (ASERCA, 2008).

ANTECEDENTES

La investigación y los trabajos en busca de alimentos que sean cada vez menos dañinos al ambiente se han desarrollado desde hace más de una década, como lo demuestran trabajos publicados como el de Mambrini *et al* en 1999 quien reemplazo la harina de pescado por concentrado de proteína de soya en la dieta de trucha arco iris, observando que la digestibilidad de la proteína fue del 92% y la digestibilidad de los lípidos y energía fue reducida al 19% cuando la harina de pescado fue sustituida totalmente. Además, concluyó que el efecto negativo consistió en la alta incorporación de isoflavonas o la interacción entre la proteína de soya y el componente de lípidos en la dieta.

Asimismo, en 1999 Kikuchi probó la sustitución de la harina de pescado por harina de soya en dietas para lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) encontrando que con una sustitución del 45% se obtiene un peso final, ganancia en peso y eficiencia proteica mayores que el control, el cual contenía 75% de harina de pescado y sin embargo la eficiencia del alimento fue significativamente más bajo. Un año más tarde, en el 2000, Carter y Hauler realizaron un reemplazo de la harina de pescado por proteína vegetal en la dieta del salmón del atlántico (*Salmo salar*), encontraron que la ganancia en peso del control en una dieta comercial fue significativamente mayor que los tratamientos, además se observó que el aumento en peso y la tasa de eficiencia del alimento fue mayor que el control cuando se utilizó harina de soya.

También se ha evaluado el efecto del reemplazo de aceite de pescado por aceite de girasol, estudio realizado por Bransden en el 2003, observando que la sustitución provocaba una mayor mortalidad por *Vibrio anguillarum*, aunque no se observó que hubiera diferencias significativas en el crecimiento, por lo que es una buena alternativa de sustitución para el aceite de pescado.

En el 2004, Serrano realizó la sustitución parcial de harina de pescado por lupino blanco en dietas de juveniles de trucha arco iris, encontrando que en general los rendimientos productivos no se ven afectados y que el lupino blanco puede ser incluido hasta un 20% en el alimento de la trucha arco iris sin efectos significativos en los rendimientos productivos o la composición de ácidos grasos.

Otro trabajo relacionado con la sustitución de harina de pescado es el efectuado por Isea *et al.* en el 2008, en donde, al estudiar la digestibilidad aparente de la harina de lombriz en la alimentación de trucha arco iris encontró que con la harina de lombriz y de torta de soya se puede obtener un coeficiente de digestibilidad de hasta un 90% y que la dieta con torta de soya presenta un porcentaje de proteína digerible del 48.8%.

En cuanto al uso de la fitasa en las dietas para peces no se han hecho muchos estudios, estos se han enfocado principalmente a la alimentación de pollos y cerdos, aunque se pueden encontrar trabajos como el de Cheng y Hardy del 2003 en donde evaluaron el efecto del proceso de extrusión y suplementación de fitasa microbial en el coeficiente de digestibilidad de las grasas totales de granos de soya para trucha arco iris, obteniendo como resultado que la administración de fitasa aumentó significativamente el coeficiente de digestibilidad del fósforo total y otros minerales, además de observar que la dosis optima de fitasa que se puede utilizar para la liberación de fósforo y otros minerales en la extrusión de grasas de la soya es de 400 FTU/kg.

Otro trabajo es el publicado en el 2004 por Sajjadi y Carter, en el cual estudiaron el efecto del ácido fítico y la fitasa en el consumo del alimento, crecimiento y digestibilidad en el salmón del atlántico encontrando que la fitasa neutralizó el efecto que tiene el ácido fítico sobre la digestibilidad de la proteína, además no tuvo ningún efecto sobre la ingesta del alimento pues el crecimiento aumenta con o sin ácido fítico, además la eficiencia del alimento se mejoró en la

dieta que contenía ambos componentes en comparación con las que tenían uno de ellos.

En años recientes y combinando el efecto de la fitasa y el uso de harina de soya, Wang en el 2008 evaluaron el efecto de esta combinación en el crecimiento, digestibilidad aparente y excreción de nutrientes de la trucha arco iris, encontrando que la digestibilidad de la proteína y los minerales se incrementan, además observaron que el nivel óptimo para reducir significativamente la excreción de fósforo es de 1000 U/Kg de fitasa con un tratamiento previo.

OBJETIVOS

General

Desarrollar dietas balanceadas basadas en harina de soya que permitan reducir las descargas de fósforo (P) y nitrógeno (N) en aguas residuales.

Particulares

Sustituir la harina de pescado por harina de soya en una dieta preparada para trucha arcoíris para encontrar el mejor grado de reemplazamiento.

Evaluar el efecto de las dietas experimentales en el porcentaje de la ganancia en peso (GP).

Valorar el efecto de las dietas experimentales en la razón de conversión del alimento.

Evaluar el nivel y digestibilidad de la proteína aprovechada por los peces.

Cuantificar la emisión de nitrógeno (NH_3) en el agua en relación al grado de reemplazamiento de la harina.

Cuantificar la emisión de fosforo (PO_4) en el agua en relación al grado de reemplazamiento de la harina.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente proyecto comenzó por la obtención de las truchas (*O. mykiss*) de un mes de edad y en estadio juvenil, en una granja trutícola ubicada en Amanalco, Estado de México, estas se mantuvieron en tinas de 1000 l durante 15 días para su aclimatación, a una temperatura promedio de 16°C, en este periodo fueron mantenidas con alimento comercial iniciador marca Malta Cleyton[®], con recambios regulares de agua y filtrado las 24 hrs del día. Al mismo tiempo se obtuvo Harina de Soya marca Cargill[®] la cual se envió a American Quality Lab S. A. de C. V. para obtener el análisis proximal (Tabla 1).

Tabla 1.- Análisis proximal de la Harina de Soya

Análisis	Valor
Humedad (%)	9.55
Grasas (%)	2.15
Genizas (%)	1.51
Fibra Cruda (%)	2.77
Carbohidratos (%)	73.29
Valor energético (Kcal./100 g)	355.43
Proteína (%) (Nx6.25)	13.50
Fósforo (%)	0.2527

Para la formulación de las dietas, se consideraron los requerimientos nutricionales de la trucha arco iris reportados por Hardy (2002) y National Research Council (NRC, 1993). Se formularon cuatro dietas experimentales (Tabla 2), sustituyendo la harina de pescado con 50, 75, 100% de harina de soya. A estas dietas se agregó 0.4 g/Kg de la enzima fitasa RONOZIME P500, Marca DSM[®]. Además se preparó una dieta experimental con 100% de sustitución pero sin añadirle fitasa; y se utilizaron como controles una dieta preparada con 100% de

harina de pescado y una dieta comercial iniciadora marca Malta Cleyton® (Tabla 2).

Tabla 2. Cantidad de ingredientes de las dietas experimentales y control (g/Kg)

Ingrediente	Gramos (g) de inclusión por 1000 g de dieta				
	CONT	Dieta 1 50%	Dieta 2 75%	Dieta 3 100%	Dieta 4 100% s/f
Harina de pescado	600	300	200	0	0
Harina de soya	0	300	400	600	600
Aceite de pescado	50	50	50	50	50
Lecitina de soya	50	50	50	50	50
Mezcla de Min. Y Vit	40	40	40	40	40
Dextrina	100	100	100	100	100
Gluten	50	50	50	50	50
Celulosa	110	109.6	109.6	109.6	110
Fitasa	0	0.4	0.4	0.4	0

Las dietas se prepararon agregando lentamente los ingredientes en una mezcladora para que se combinaran uniformemente, posteriormente se hicieron los pellets en un molino de carne marca Nixtamatic® hasta que tomara una consistencia firme y compacta. Ya hechos los pellets se secaron en un horno a 60°C durante 48 hrs. y se mantuvieron en refrigeración dentro de bolsas de plástico herméticamente cerradas, (Fig. 1).



Figura 1.- Preparación de las dietas y secado de los pellets para cada dieta.

Condiciones experimentales

Para la fase experimental de la alimentación se utilizó un sistema de recirculación con una cisterna de almacenaje de 1000 l (Fig. 2), una bomba de agua de 0.75 HP y un filtro mecánico, aireación constante con una concentración de Oxígeno de 6.8 mg/l, flujo de agua de 1.5 l/min y temperatura ambiente promedio de $14 \pm 1^\circ\text{C}$.



Figura 2.- Detalle del sistema de recirculación para las pruebas de alimentación.

Los peces se mantuvieron en ayuno durante las 24h anteriores a la selección para evitar la muerte por estrés, transcurrido este tiempo se seleccionaron las truchas pesándolas en una balanza digital para obtener un peso inicial por tanque de 4.1 ± 1 g, se llevaron a cabo tres repeticiones de cada tratamiento y en cada una se utilizaron 15 peces.

Prueba de alimentación

Posteriormente durante 50 días se alimentaron a los peces en dos raciones por día dando a los peces el 7% de su biomasa corporal dividida en cada una de las raciones. El alimento fue ofrecido homogéneamente en cada tanque hasta la saciedad observando que los peces consumieran el alimento, deteniendo la alimentación en el momento en el que los peces ignoraban el alimento y dejaban de comer, después de la alimentación se peso el alimento sobrante de cada día, (Fig. 3). Además durante los últimos quince días de la prueba, media hora después de cada comida se colectaron las heces mediante sifoneo de cada tanque, removiendo el exceso de agua y conservándolas en congelación dentro de frascos de plástico para secarlas y analizarlas posteriormente. Ya secas las heces, se pesaron en materia seca para poder determinar cuánto alimento consumieron los peces en cada día.



Figura 3.- Pruebas de alimentación y ración diaria para la alimentación de *O. mikyss*

Crecimiento

Para determinar el crecimiento de los peces, estos fueron pesados cada 10 días en una balanza digital dentro de un recipiente con agua con peso conocido y tarando la balanza. Posteriormente se determinaron los parámetros relacionados con el crecimiento utilizando las siguientes formulas:

Consumo de dieta (CD)

$$CD (g) = \text{total de alimento consumido en base seca (g)/pez/día}$$

Ganancia en peso:

$$GP (g) = [PF (\text{peso final, g}) - PI (\text{peso inicial, g})]$$

Tasa de crecimiento específico (TCE):

$$TCE (\%) = [(\ln PF - \ln PI) / \text{número de días en alimentación}] * 100$$

Razón (ó eficiencia) de conversión de alimento (RCA)

$$RCA = [GP (\text{ganancia en peso, g}) / \text{total de alimento suministrado (g DM)}]$$

Tasa de eficiencia proteica (ó razón de eficiencia proteica) (TEP)

$$TEP = \text{ganancia en peso (g)} / \text{ingesta protéica (g)}.$$

Producción de Nitrógeno, Fósforo y consumo de Oxígeno

Para determinar la producción de amonio (NH_3), fósforo (PO_4) y el consumo de Oxígeno se tomaron al azar a 10 peces por tratamiento y se les alimento de la manera antes mencionada, dejando pasar 30 min para colocarlos durante 60 min en una cámara respirométrica que consistió en 10 frascos de 500 ml cerrados herméticamente; previamente se tomó la concentración de O_2 y pasados los 60 min se volvió a registrar el mismo parámetro en cada frasco con un oxímetro modelo YSI 85-10-FT, se extrajeron a los peces y se tomo una muestra de agua por frasco, en recipientes de 50 ml para posteriormente realizar la medición de nitrógeno y fosforo en un espectrofotómetro Hach DR-2000, (Fig. 4).



Figura 4.- Uso de cámara respirométrica y espectrofotómetro para análisis químicos.

Determinación de la Digestibilidad Aparente

Concluyendo la prueba de alimentación, se llevó a cabo durante los 10 días siguientes, la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) por medio de la marcaje del alimento con óxido de cromo (Cr_2O_3), el cual fue añadido en la dieta en una cantidad de 1% y recolectando las heces de la misma forma que en la prueba de alimentación. Posteriormente las heces fueron tratadas mediante el método de Kjendahl para poder determinar la cantidad de cromo en ellas. Para saber el valor de digestibilidad de la proteína en el alimento se utilizó la siguiente fórmula:

Coeficiente de Digestibilidad aparente (CDA)

$$\text{CDA (\%)} = 100 - [(\% \text{ IA} / \% \text{ IH}) * (\% \text{ NH} / \% \text{ NA}) * 100]$$

Donde:

IA=indicador en el alimento

NH=nutrimento (proteína) en heces

IH indicador en las heces

NA=nutrimento (proteína) en el alimento

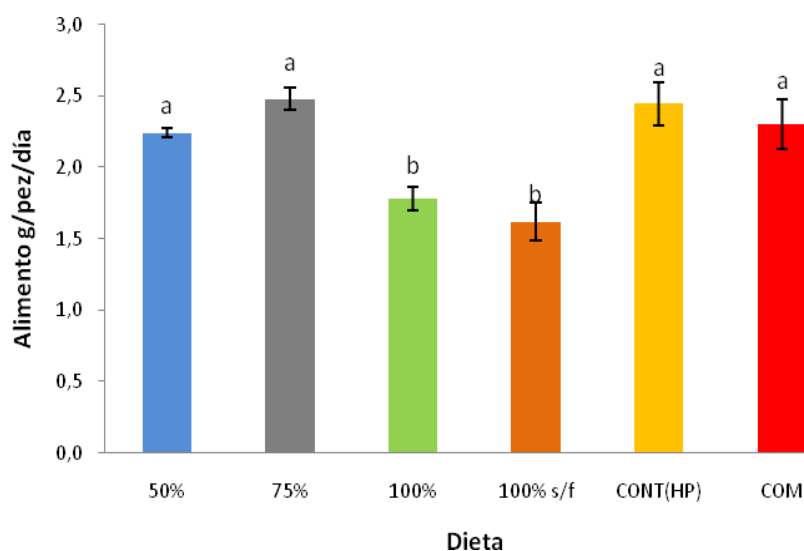
Análisis Estadístico

Al obtener resultados de los análisis se llevó a cabo un análisis estadístico de varianza de una vía (ANDEVA) a cada parámetro obtenido, además de una comparación de medias mediante el método de Fisher, con un intervalo de confianza del 95% ($P < 0.05$); utilizando el programa estadístico Minitab[®] 2006.

RESULTADOS

Consumo de la Dieta

En comparación con los controles la dieta experimental tuvo mayor aceptación, por lo tanto fue más consumida que la dieta con 75% de sustitución, con un valor de 2.482 g/pez/día, siendo significativamente igual a los controles; por otro lado podemos ver que las dietas con un 100% de sustitución de harina de pescado presentaron valores significativamente más bajos comparándolos con los dos controles y las dietas con 50 y 75% de sustitución (Gráfica 1).

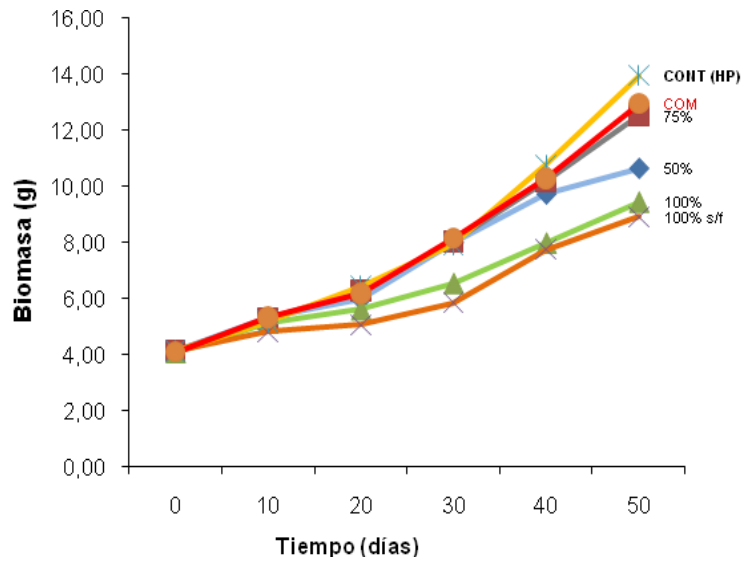


Gráfica 1.- Cantidad de alimento consumido por pez por cada día de tratamiento, mostrando líneas error estandar y letras de significancia, letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

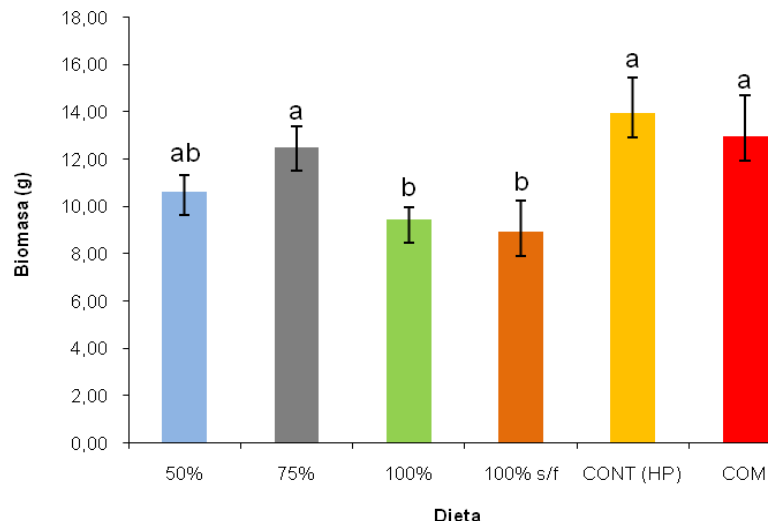
Crecimiento

Se observó que en general con las dietas experimentales se logró aumentar el peso de los peces durante los 50 días de alimentación (Gráfica 2), sin embargo la Dieta 3 (100%) y la Dieta 4 (100% s/f) que no contenían harina de pescado, tuvieron durante los 50 días un crecimiento significativamente menor pues se registro un peso final de 9.26 y 8.92 g respectivamente, en comparación el control HP que presentó 13.95 g y el control COM de 12.95 g. Se observó que los peces alimentados con la Dieta 2 con un 75% de sustitución obtuvieron un peso final de

12.52 g, el cual fue significativamente igual que el registrado con de los controles (Gráfica 3).

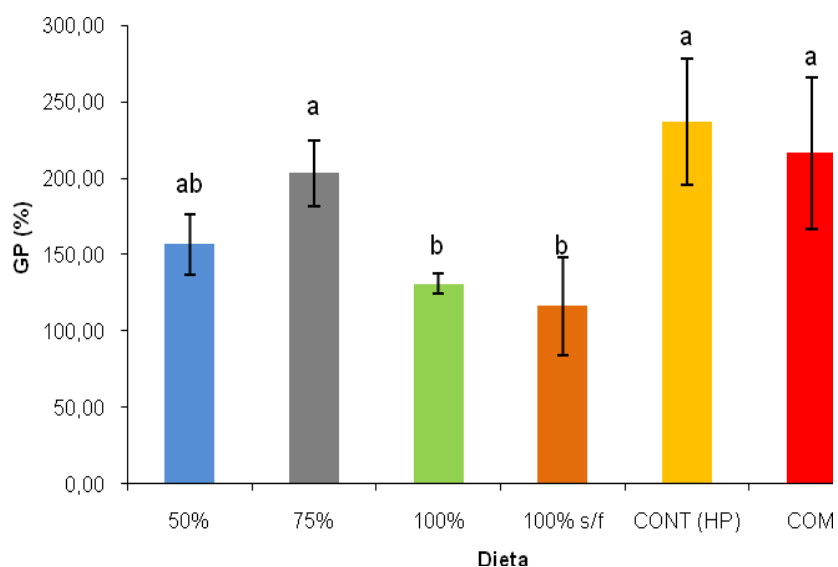


Gráfica 2. Variación de la biomasa a través del tiempo de *O. mykiss* alimentados con las dietas experimentales y control.



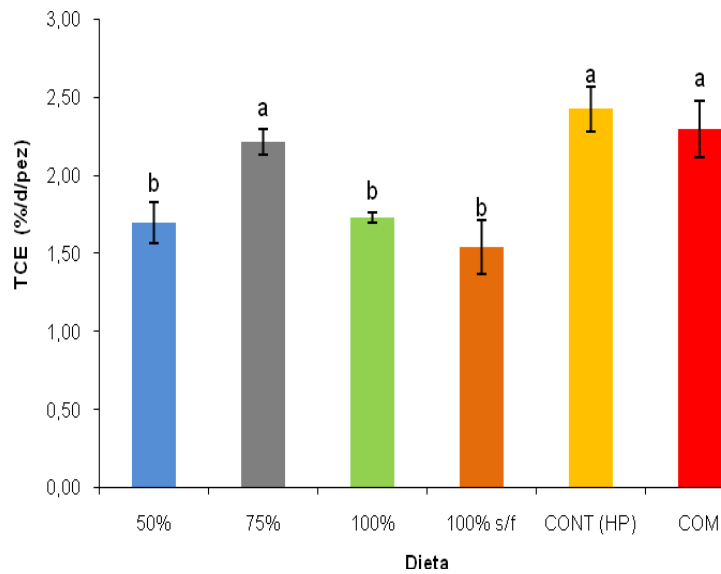
Gráfica 3.- Peso final registrado para *O. mykiss* en cada tratamiento después de 50 días de alimentación, con letras de significancia ($P < 0.05$) y líneas de error estándar.

Además al evaluar la ganancia en peso en porcentaje se observó que en comparación con la dieta CONT (HP) y COM no hay diferencias significativas con la Dieta 1 y 2 (50 y 75%) que tuvieron un valor de 156.82 y 203.24% respectivamente, sin embargo las dietas con el 100% y 100% s/f de sustitución fueron significativamente más bajas que los controles, registrando valores de 131.04 y 116.31% respectivamente (Gráfica 4).



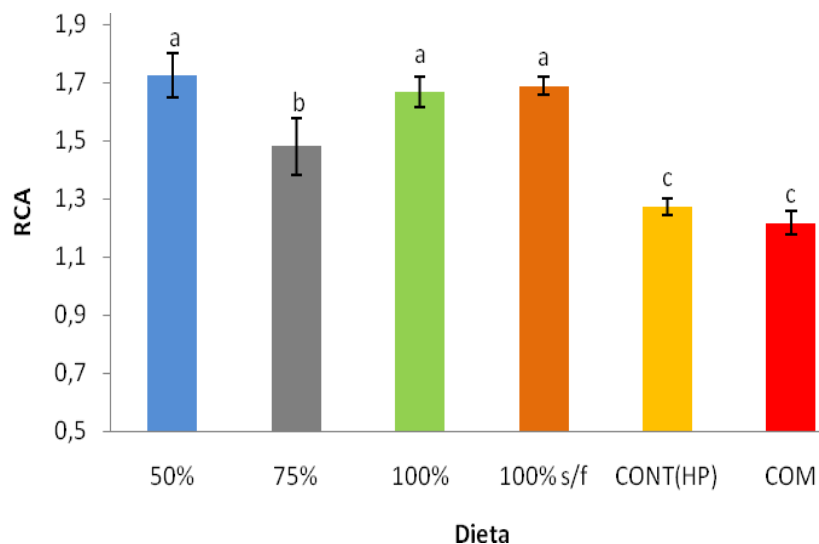
Gráfica 4.- Comparación de la Ganancia en Peso (%) entre los diferentes tratamientos, con líneas de error estándar y letras de significancia ($P < 0.05$).

En cuanto a la Tasa de Crecimiento Específico tampoco se obtuvieron diferencias significativas al comparar el dato de 2.43 y 2.30 en las dietas control CONT (HP) y COM respectivamente, contra la dieta con 75% de sustitución con un valor de 2.22, asimismo se observó que las dietas con el 100% de sustitución de harina resultaron tener la menor tasa de crecimiento (Gráfica 5).



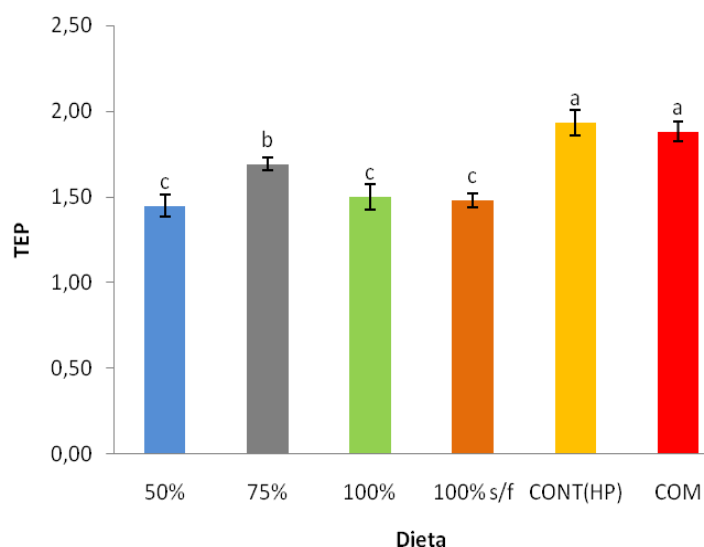
Gráfica 5.- TCE expresado en % por día por pez reportado por *O. mykiss* alimentados durante 50 días.

Para el caso de la razón de conversión del alimento se observó que las dietas arrojaron valores que van de 1.749 de la dieta 75% de sustitución a 1.726 en la dieta con 50%, en general las dietas experimentales tuvieron valores de RCA significativamente más altos que los dos controles (Gráfica 6).



Gráfica 6.- Razon de conversión del alimento (RCA) de trucha arcoiris alimentada con cada dieta experimental, con letras de significancia ($P < 0.05$) y líneas de error estándar.

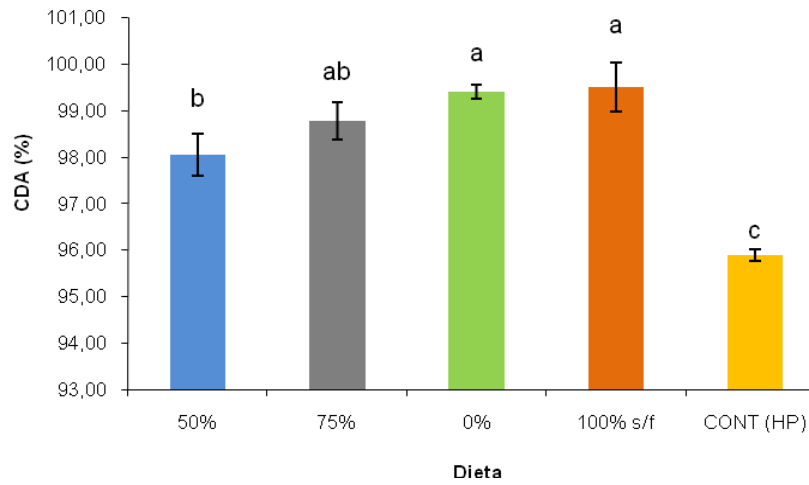
Al evaluar la tasa de eficiencia protéica se puede apreciar que el valor registrado para los controles fueron significativamente más altos que las dietas experimentales, resaltando que en estas, la dieta con 75% de sustitución fue significativamente mas alto con el valor de 1.691, (Gráfica 7).



Gráfica 7.-Tasa de eficiencia protéica registrada en *O. mykiss* alimentada con cada dieta experimental.

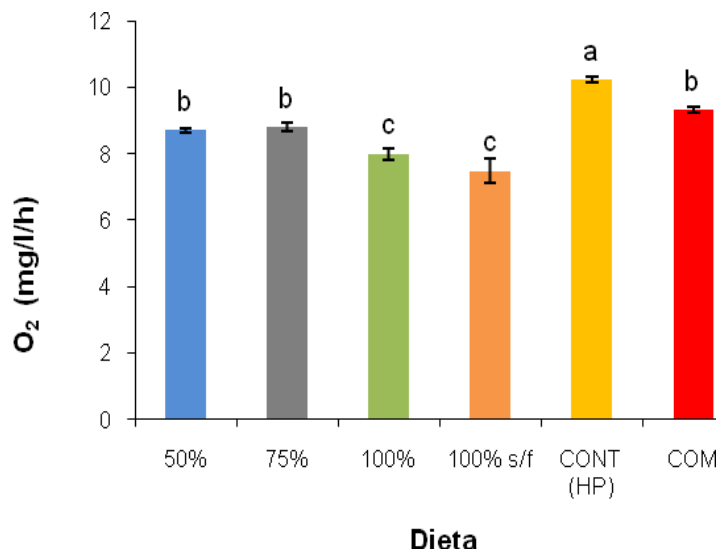
Digestibilidad de la proteína

Se observan diferencias notablemente significativas al sustituir la harina de pescado, pues todas las dietas experimentales tuvieron valores mayores que el control CONT (HP), y entre las dietas se observa que a mayor sustitución de la harina de pescado por la harina de soya, es mayor el índice de digestibilidad de la proteína, (Gráfica 8).



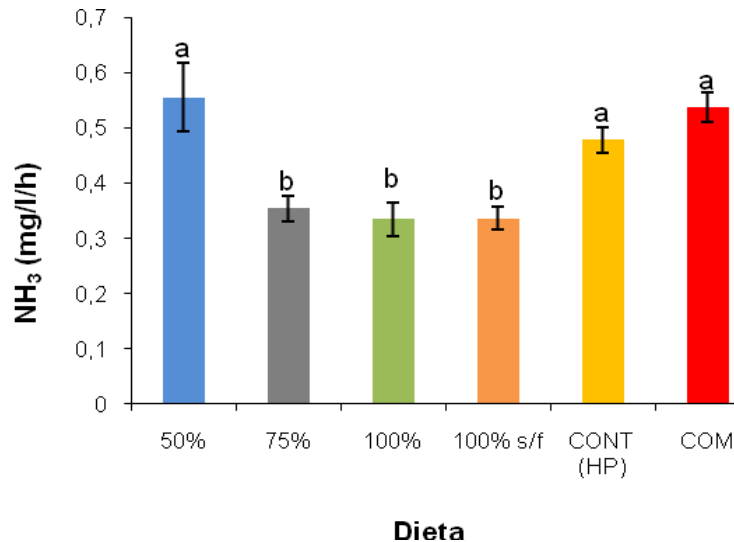
Gráfica 8.- Digestibilidad aparente expresada en % para *O. mykiss* alimentados durante 50 días, con letras de significancia ($P < 0.05$) y líneas de error estándar.

En cuanto al oxígeno consumido por los peces al ser alimentados con cada dieta experimental se puede apreciar que la dieta en la que consumieron significativamente más oxígeno fue con el control CONT (HP) en el cual el consumo fue de 10.23 mg/l/h, las dietas con 50% y 75% de sustitución fueron significativamente iguales al control COM y las dietas sin harina de pescado (100% y 100% s/f) tuvieron valores mas bajas comparandolas con todas las dietas (Gráfica 9).



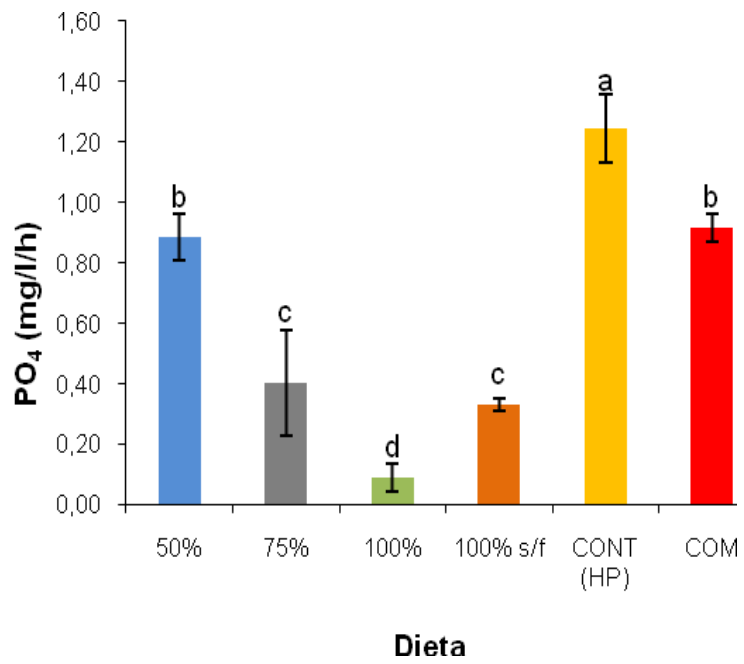
Gráfica 9.- Consumo de O₂ de *O. mykiss* alimentados con las diferentes dietas durante una hora.

Al evaluar la cantidad de amonio excretado en cada tratamiento se obtuvo que la dieta con 50% de sustitución y las dietas controles tuvieron valores de 0.56, 0.48 y 0.54 mg/l/h respectivamente, siendo significativamente iguales entre si y mayores a las dos dietas con 100% de inclusión de harina de soya, en las cuales la cantidad de N amoniacal excretado fue de 0.33 y 0.34 mg/l/h (Gráfica 10).



Gráfica 10. Excreción de nitrógeno como NH₃ de *O. mykiss* durante una hora alimentados con las diferentes dietas; mostrando letras de significancia (P<0.05) y líneas de error estándar.

Finalmente al cuantificar la cantidad de fósforo excretado se observa que la dieta con mayor descarga de fosfato es la dieta control CONT (HP) con 1.25 mg/l/h, la dieta con 50% de sustitución y el control COM fueron semejantes, al igual que las dietas con 75% y 100% s/f de sustitución; haciendo significativamente menor a todas la dieta con 100% de harina de soya y que contiene fitasa, con un valor de 0.09 mg/l/h (Gráfica 11).



Gráfica 11. Excreción de Fósforo como PO_4 de *O. mykiss* alimentados con las diferentes dietas a lo largo de una hora; mostrando líneas de error estándar con letras de significancia ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

El presente estudio reafirma el potencial de la harina de soya para ser utilizada en el alimento comercial para trucha arco iris, pues en general, las dietas experimentales fueron bien aceptadas por los peces a excepción de las dietas con 100% de sustitución de harina de soya, pudiendo atribuir este hecho a que las truchas tienen hábitos alimenticios carnívoros, por lo que les es más complicado digerir proteínas de origen vegetal (Sanz, 2002), además de que la palatabilidad de estas dietas se ve disminuida por el elemento vegetal en ellas; por otra parte no se encontró que la mortalidad de algunos tratamientos se debiera a la sustitución de la harina (Bernabé, 1991).

Por otro lado los resultados de los índices que reflejan el crecimiento de los organismos fueron significativamente mayores para la dieta con 75% de sustitución, comparándola con los resultados obtenidos en diversos trabajos como el reportado por Wang en el 2008 en donde realizó una sustitución del 60% de harina de soya por harina de pescado, obteniendo valores en la razón de conversión del alimento menores a los reportados por el presente proyecto; así mismo, en el caso de otras semillas utilizadas para el reemplazamiento, se han obtenido resultados muy similares, como lo demuestra Adelizi en el 2004, quien utilizó harina de maíz, obteniendo 215% de crecimiento y con la harina de soya se obtuvo 203% de crecimiento con la dieta de 75% de sustitución.

Conjuntamente, al observar los datos obtenidos de la RCA podemos observar que todas las dietas experimentales tuvieron valores significativamente más altos que los controles, aunque comparando las dietas con 100% de harina de soya con los resultados de las mismas pero de crecimiento y consumo de alimento no concuerda puesto que al consumir más alimento los peces deberían transformar mas alimento en biomasa, esta contradicción puede deberse a que en general harinas de origen vegetal son deficientes en aminoácidos indispensables

para el crecimiento de salmónidos, tales como la metionina el cual debe estar presente en un 4% de la composición de la dieta (Castro, 1994).

Además al observar todos los parámetros de crecimiento y compararlos con el consumo de oxígeno en cada tratamiento, podemos observar que aunque no hay diferencias significativas en cuanto al crecimiento, entre la dieta con 75% y los controles, si existe un menor consumo de oxígeno al hacer la misma comparación de dietas, esto nos refleja que para la asimilación de la dieta con esta concentración de soya los organismos requieren la misma o incluso menos energía para metabolizar el alimento. Asimismo, como lo menciona Shepherd y Bromage en 1998, para obtener una mejor asimilación de la dieta y en específico de las proteínas se requiere que la alimentación se lleve a cabo a una temperatura máxima de 15°C, esto concuerda con el presente trabajo pues se mantuvo una temperatura constante dentro de este rango.

Por otra parte, algunos autores han reportado que al adicionar en la dieta algún elemento de origen vegetal, como pueden ser aceites, harinas o concentrados de proteína de soya se logran disminuir las concentraciones de deshechos nitrogenados en el agua de los sistemas de producción, como en el estudio realizado por Francoise en 1998 en donde se pudo reducir significativamente la cantidad de nitrógeno en la excreción a partir de una dieta con concentrado de proteína con el 50 % de sustitución, estos resultados concuerdan con el presente ya que se encontró que a partir de la dieta dos con 50% de sustitución se logra reducir el nitrógeno en la excreción de los peces, siguiendo una tendencia a disminuir hasta la sustitución de 100% de la harina de pescado.

Otros trabajos en relación a la reducción de fósforo en los sistemas acuícolas hablan de adicionar a las dietas ciertas cantidades de enzima fitasa para que el fósforo contenido naturalmente en las dietas, se encuentre en formas más disponibles para el organismo, además de aumentar la viabilidad biológica de

algunos otros minerales y elementos traza, (Ling, 2007); estas pruebas se han ensayado ampliamente en otros peces de interés comercial y de consumo como lo demuestra el trabajo realizado por Kumar *et al.*, en el 2007, en donde al alimentar *Pargus major* con dietas formuladas con 2000 FTU kg⁻¹ de fitasa se registró 12 g/ kg⁻¹ peso ganado en la excreción de fósforo; y con una dieta con 30% de sustitución de harina de pescado por harina de soya, coincidiendo con el presente estudio en donde se logró disminuir la cantidad de fosforo contenido en las heces a partir de un 50% de sustitución de las mismas harinas.

Además, algunos otros trabajos como el realizado en el 2004 por Zongjia, en el cual se encontró que la cantidad óptima para la reducción de fósforo en las dietas para *O. mykiss* es de 500 FTU kg⁻¹, coincidiendo con este trabajo en que al adicionar esta cantidad de proteína y con la sustitución del 50% de harina de soya, no se ven afectados de manera negativa los niveles de digestibilidad de la proteína en las dietas.

CONCLUSIONES

- Se confirmó que es posible el uso de harina de soya como sustituto de la harina de pescado en dietas para trucha arco iris.
- El crecimiento de las dietas con 50% y 75% de harina de soya fue significativamente igual que el de los controles.
- Se observó una disminución significativa en la excreción de NH_3 con las dietas con 75% y 100% de soya.
- Se observó una disminución significativa en la excreción de PO_4 con todas las dietas experimentales.
- La adición de Fitasa en la formulación de dietas para trucha arco iris disminuye significativamente los niveles de P en el agua residual del sistema.

REFERENCIAS

- Adelizi P. 2004. Evaluation of fish-meal free diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Nutrition. United States of America. pp. 260.
- Bschrnann, A., 2001. Impacto Ambiental de la Acuicultura el Estado de la Investigación de Chile y el Mundo. Un análisis bibliográfico de los avances y restricciones para una producción sustentable de los sistemas acuáticos. . Terram Publicaciones. Santiago, Chile. p. 11-15.
- ASERCA. 2008. Reporte de granos (Febrero 2008). Confederación de Porcicultores Mexicanos A. C., Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. México. p. 9-13
- Bernabé G. 1991. Acuicultura Vol. II. Ediciones Omega S.A.. Segunda edición. p. 497-504.
- Buentello, J. A., and Gatlin, D. M. 2001. Effects of elevated dietary arginine on resistance of channel catfish to exposure to *Edwardsiella ictaluri*. Journal of Aquatic Animal Health 13, p 194-201.
- Bransden M. 2003. Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar*): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. Biochemistry and Molecular Biology, Volume 135. pp 611-625
- Castro E. 1994. Control de Calidad de Insumos y Dietas Acuícolas. AQUILA - Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina y el Caribe. Segunda Edición. p 264.

- Carter, C. and Hauler, R.; 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture 185. p 229-311.
- Cheng J & Hardy R. 2003. Effects of extrusion and expelling processing, and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 218. United States of America. p. 506-.511
- Clarke, E., and Wiseman, J. 2000. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans I. Protein and amino acid content. J Agric Sci 134, p 111-124.
- CONAPESCA-SAGARPA. 2004. Anuario estadístico de pesca. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. México.
- Françoise M. 1998. Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed increasing dietary levels of soy protein concentrate. Aquat. Living Resour. France. p. 244.
- FAO, 2006. The State Of World Fisheries And Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. p 29-31.
- Guillaume, J. & Metailler, R. 1999. Mateares premières et additifs utilisés dans l'alimentation des poissons. Editions INRA-IFREMER. France. p. 147-169.
- Hardy, R. 1988. Diet Preparation. In: Halver, J. (ed). Fish Nutrition- Second Edition. Academic Press, INC. United States of America. p. 476-.549

- Hasan, M. R. 2001. Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. Eds. Aquaculture in the Third Millennium. p. 193-219.
- Hasan A., Nizamettin S., 2005. Efect of Microbial Phytase on Growth Performance and Nutrients Digestibility in Broilers. Department of Animal Science, Tekirdag Agricultural Faculty, Trakya University, Tekirdag, Turkey. Pakistan Journal Nutrition. pp. 5.
- INAPESCA. 2007. Anuario estadístico de Pesca y Acuicultura. SAGARPA. México
- Isea F., Medina G., Pierre A. 2008. Estudio de digestibilidad aparente de la harina de lombriz (*Eisenia andrei*) en la alimentación de trucha arco iris (*Onchorinchus mykiss*). Rev. chil. nutr., vol.35, pp. 62-68.
- Kaushik S. 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic o antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 133. p 263-271.
- Kikuchi K. 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture 179. Japan. p. 8-10.
- Kumar A. Biswas, Hou K., 2007, Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pargus major*, Aquaculture, U.S.A., January, pp. 288
- Ling Cao, 2007, Application of microbial phytase in fish feed. ScienceDirect, Enzyme and Microbial Technology, p 497-507.

- Mambrini, M., Roem, A. J., Cravedi, J. P., Lallès, J. P., Kaushik, S. J., 1999. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high-energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Anim. Sci. 77. p 2990- 2999.
- Orhan U. 2006, Growth and phosphorus loading by partially replacing diet fishmeal with tuna muscle by-product powder in the diet of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, Aquaculture. U.S.A. February, pp. 9
- Rutherford S. M., T. K. Chung and P. J. Moughan. 2002. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. Tylor & Francis group; British Poultry Science. pp 599.
- Sajjadi M & Carter C., 2004. Effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). Aquaculture Nutrition 10. Australia. p 138-140.
- Sanz F. 2002. La Alimentación en Piscicultura. XVII Curso de Especialización FEDNA. Trouw España S. A.. pp. 6.
- Serrano, E. 2004. Reemplazo parcial de harina de pescado por harina de upino blanco (*lupinus albus*) en dietas extruidas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): efectos sobre los índices productivos y la composición de ácidos grasos en el músculo. Tesis de grado Universidad Católica de Temuco. Chile. pp 72.
- Shepherd J. y Bromage R.. 1998. Piscicultura intensiva Zaragoza, España p. 78-83

- Vega, R. 1990. Alimentación de Salmonídeos, Avances en Producción Animal. Editorial Universidad Austral de Chile. Instituto de Producción Animal. p. 285-315.
- Wang F. 2008. Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquacult Int., Springer Science+Business Media B.V. p. 8-7.
- Zongjia J. 2004. Effects of Microbial Phytase Supplementation and Dosage on Apparent Digestibility Coefficients of Nutrients and Dry Matter in Soybean Product-Based Diets for Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 35, No. 1. p 256-260.