



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUATITLÁN**

**EFFECTO DEL AISLADO DE PROTEÍNA DE SOYA Y POLVO DE
Spirulina COMO FUENTES DE PROTEÍNA EN EL CRECIMIENTO,
EXCRECIÓN DE FÓSFORO (P) Y NITRÓGENO (N) EN LA TILAPIA
HIBRIDA *Oreochromis* sp.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
PRESENTA:
OMAR EZEQUIEL AGUILLÓN HERNÁNDEZ**

ASESOR: DR. LUIS HECTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.

ASUNTO: VOTO APROBATORIO
 SUPERIORES CUAUTITLÁN

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautilán

DEPARTAMENTO DE

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos LA TESIS:

Efecto del aislado de proteína de soya y polvo de *Spirulina* como fuentes de proteína en el crecimiento, excreción de fósforo (P) y nitrógeno (N) en la tilapia híbrida *Oreochromis* sp.

Que presenta el pasante: **Omar Ezequiel Aguillón Hernández**

Con número de cuenta: **30102120-1** para obtener el Título de: **Médico Veterinario Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautilán Izcalli, Méx. a 26 de Junio de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	QB. Lilián Morfín Loyden	
VOCAL	Dr. Jesús Alberto Guevara González	
SECRETARIO	Dr. Luis Héctor Hernández Hernández	
1er SUPLENTE	MVZ. Bricia Plata Anaya	
2do SUPLENTE	Dra. María de los Ángeles Ortíz Rubio	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm

El presente trabajo se realizo con el apoyo del programa PAPIIT IN208509-3 de la
UNAM.

Dedicatoria.

Quiero dedicar este trabajo a mi familia, a mi país y a mi alma máter la UNAM, los tres grandes pilares que me han formado como persona y a los cuales debo la oportunidad de obtener mi educación universitaria, espero poder retribuirles algo de lo mucho que me han dado.

Agradecimientos.

Quiero agradecer a todas las personas que contribuyeron a la realizacion de este trabajo, en primer lugar a mis padres Ezequiel Aguillón Vargas y Maria Guadalupe Hernández Ortiz por su apoyo incondicional en el transcurso de mi vida academica y por la confianza que han depositado en mi en esta ultima fase de la licenciatura, ¡los quiero mucho!

Tambien quiero agradecer a mi tia Virginia Aguillón Vargas por su apoyo durante la realizacion de este trabajo.

Gracias tambien al Dr. Luis Hector Hernández Hernández, al M. C. Mario Alfredo Fernandez Araiza y al Biol. Omar Angeles López por darme la confianza y la oportunidad de trabajar con ustedes.

Y por ultimo un muy especial agradecimiento a todos mis compañeros del Laboratorio de Produccion Acuicola de La FES Iztacala: a Gerardo, Esleban, Topacio, Daniel, Andy, Tere, Yesel, Lupe y Leydi, de quienes aprendi mucho y que estuvieron dispuestos a ayudarme simepre.

Índice.

Resumen	8
1.-Introducción	9
• 1.1 Situación actual de la acuicultura.	9
• 1.2 Problemática de la harina de pescado.	11
• 1.3 Fuentes de proteína alternas y dietas amigables con el ambiente.	14
• 1.4 Uso de probióticos y enzimas	17
• 1.5 Situación actual de la producción de tilapia.	20
• 1.6 Descripción de la especie	22
2.-Antecedentes	30
3.-Justificación	32
4.-Objetivos	33
• 4.1 Objetivo general	33
• 4.2 Objetivos particulares	33
5.-Hipótesis	34
6.-Materiales y Métodos	35
• 6.1 Formulación y elaboración de dietas	35
• 6.2 Prueba de alimentación.	36
• 6.3 Parámetros de crecimiento y sobrevivencia.	40
• 6.4 Determinación del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA).	41
• 6.5 Determinación de consumo de oxígeno, excreción de Fósforo y Nitrógeno	41
• 6.6 Pruebas de sistema inmune no específica	42
• 6.7 Determinación de lípidos en músculo y vísceras.	43

• 6.8 Determinación de proteína en musculo y vísceras.	43
• 6.9 Análisis estadístico.	43
7.-Resultados	44
• 7.1 Crecimiento	44
• 7.2 Consumo de oxígeno	45
• 7.3 Excrecion de fósforo (P) y nitrógeno (N) amoniacal al medio	45
• 7.4 Composición química	47
• 7.5 Respuesta inmune no específica	51
8.-Discusión	53
9.-Conclusiones	62
10.-Literatura citada	64
11.-Anexo	72
• Anexo 1-2	72
• Anexo 3-4	73
• Anexo 5	74
• Anexo 6	75
• Anexo 7	76
• Anexo 8	77

RESUMEN

Se realizó una prueba de alimentación con 120 juveniles de tilapia híbrida (*Oreochromis* sp) con un peso inicial de $1.2 \text{ g} \pm 0.5\text{g}$, los cuales se dividieron en cuatro lotes, con tres repeticiones y se mantuvieron en grupos de 10 individuos en tanques de vidrio de 15 litros. Tres lotes se asignaron para las dietas experimentales y el cuarto se asignó para la dieta testigo. Las dietas experimentales se formularon con Aislado de Proteína de Soya (APS) y polvo de *Spirulina* (PS) como base y se modificó la inclusión de proteasa y levadura; quedando la dieta 1 con solo levadura, la dieta 2 con proteasa y la dieta 3 con proteasa y levadura, para la dieta testigo se utilizó un alimento comercial. La prueba de alimentación duró 50 días, con otros 10 días extras para la prueba de digestibilidad y la medición de las excreciones metabólicas, tiempo después del cual se obtuvo que las dietas experimentales formuladas con base en APS y PS disminuyen de manera significativa la concentración de fósforo en las heces ($P < 0.05$), y mantienen el crecimiento de los organismos de igual forma y con niveles similares en la excreción de PO_4 , NH_3 y consumo de O_2 que el alimento comercial, esto sin afectar significativamente la composición química ni la respuesta inmune inespecífica de los organismos. También se observó un efecto positivo en la adición conjunta de la levadura y la proteasa sobre el crecimiento y respuesta inmune no específica de los organismos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Situación actual de la acuicultura.

La acuicultura es desde hace mucho tiempo una de las esperanzas del mundo para producir alimento proteico de primera calidad, es una actividad agroindustrial a la cual el país está apostando con miras hacia un futuro signado por la globalización de los mercados.

La pesca de captura y la acuicultura suministraron al mundo unos 142 millones de toneladas de pescado en 2008, de las cuales 115 millones de toneladas se destinaron al consumo, la acuicultura generó el 46 % del suministro total de pescado comestible y ambas proporcionaron un suministro per cápita aparente aproximado de 17 kg (Departamento de pesca y acuicultura de la FAO, 2010).

La producción acuícola mundial se ha incrementado notablemente, desde menos de 1 millón de toneladas anuales en 1950 hasta los 52,5 millones de toneladas en 2008, y ha aumentado a un ritmo tres veces mayor que la producción mundial de carne (2,7 % contabilizando el ganado avícola y vacuno juntos) en el mismo período. A diferencia de la producción mundial de la pesca de captura, la cual prácticamente no ha aumentado desde mediados de la década de 1980, el sector acuícola ha mantenido un índice de crecimiento medio anual del 8,3 % en todo el mundo entre 1970 y 2008 (Departamento de pesca y acuicultura de la FAO, 2010).

El valor de las capturas acuícolas mundiales, excluidas las plantas acuáticas, se calcula en 98 400 millones de USD en 2008. El valor real de la producción del sector acuícola al completo debería ser considerablemente superior a dicha cifra porque todavía no se ha calculado ni incluido el valor de la producción de viveros y criaderos acuícolas ni el de la cría de peces ornamentales (Departamento de pesca y acuicultura de la FAO, 2010).

Actualmente China sigue siendo, con mucho, el mayor productor de pescado con 47,5 millones de toneladas en 2008 (32,7 y 14,8 millones de toneladas procedentes de la acuicultura y la pesca de captura, respectivamente) (Departamento de pesca y acuicultura de la FAO, 2010).

En México el consumo aparente per cápita de productos procedentes de la pesca y la acuicultura, creció de 3.5 kilogramos en 1970 hasta 23.4 kilogramos en el año 1981, alcanzando en este último año, uno de los puntos históricos más altos de producción 1, 565,465, toneladas en un país entonces con 72 millones de habitantes. En 2008 con 108 millones de habitantes en México, el consumo es de 10.6 kilogramos (CANAINAPESCA, 2009).

En México la acuicultura participa en un poco más del 12% de la producción pesquera nacional, sin embargo podría representar un 40% de la producción pesquera nacional en un plazo de 10 a 15 años. En las últimas décadas, hay una tendencia mundial al crecimiento de la producción acuícola de pescados y mariscos. La camaronicultura es una de las actividades con mayor crecimiento en el país y ronda las 140 mil toneladas anuales; sin embargo la acuicultura de otras especies, no ha terminado de despegar por los obstáculos que enfrenta, así como por la falta de apoyo gubernamental y de programas específicos de fomento que le permitan alcanzar su verdadero potencial (CANAINAPESCA, 2009). En general se da muy poco valor agregado a la producción pesquera y acuícola, en nuestro país y se carece de apoyos para este propósito además de que la actividad está sujeta a insumos caros, en especial la energía eléctrica y el financiamiento (CANAINAPESCA, 2009).

El crecimiento sostenido de la acuicultura en estos últimos años ha producido cambios negativos en el aspecto ecológico, principalmente en ecosistemas cercanos a las granjas, los cuales reciben descargas excesivas de productos orgánicos producidos por las altas densidades de organismos que se producen en explotaciones intensivas, además de antibióticos utilizados

frecuentemente como promotores del crecimiento en las dietas balanceadas para organismos acuáticos, lo cual modifica gravemente la calidad del agua atentando así a la biodiversidad de los sitios donde se vierten estos desechos. Otro efecto importante es la presión que ejerce la acuicultura sobre el consumo y producción de la harina de pescado que en su mayoría proviene de la pesca, lo cual además de poner en riesgo a especies capturadas para dicho fin genera también un impacto ambiental debido a la carga de material orgánico, producido durante la elaboración de la harina y el aceite de pescado. Además de estos problemas la acuicultura tendrá que competir siempre con el resto de las explotaciones animales por insumos proteicos de buena calidad que puedan garantizar un buen crecimiento de los organismos con un precio que permita que la actividad sea rentable, lo cual genera la necesidad de buscar fuentes proteicas diferentes a las comúnmente utilizadas en la elaboración de dietas para animales domésticos.

1.2 Problemática de la harina de pescado.

Actualmente, la acuicultura depende del suministro proteico de las pesquerías pues basa su producción en la harina de pescado (consume el 56% de su producción total). La producción mundial de harina de pescado se ubica en un rango de 6 a 7 millones de toneladas métricas (TM) anuales lo que implica un nivel de captura anual de 25 a 30 millones de TM de pescado de tipo (en 2008 20.8 millones de toneladas procedentes de la pesca se destinaron a la producción de harina y aceite de pescado) (Departamento de pesca y acuicultura de la FAO, 2010), lo cual ha generado una presión sobre la captura de estos organismos sobre explotados en su mayoría, Chile y Perú, representan el 60 % de la oferta mundial de harina de pescado (Sheperd, 2006).

Las capturas para la elaboración de harinas de pescado se han reducido continuamente en los últimos años, sin embargo la producción de harina de pescado ha permanecido más o menos estable porque este producto se genera

cada vez más a menudo a partir de los desechos procedentes de la industria de elaboración del pescado. La participación de estos productos en la producción mundial de harina de pescado se estima en 25% del total de la harina producida. En 2009 la demanda de harina de pescado fue notable y dio lugar a un incremento considerable de su precio en dicho año, los precios de la harina de pescado se incrementaron, hasta alcanzar USD 1.4000/t¹. Si la acuicultura continua con la tasa de crecimiento que ha tenido en estas últimas dos décadas, necesariamente se va a ver limitada a corto plazo por la falta de recursos proteicos, lo que ocasionará que la acuicultura en muchos lugares del mundo no sea una actividad sostenible y rentable (Departamento de pesca y acuicultura de la FAO, 2010).

La elaboración de harina de pescado se puede realizar mediante procesos rústicos o utilizando instalaciones sofisticadas, lo cual influye en la calidad nutricional del producto y su precio, también influye su origen (especies a partir de las cuales se elaboró). México produce harina de pescado cuya calidad por lo general es baja y muy variable debido a deficiencias en los sistemas de producción y el tipo de especies utilizadas para su elaboración, por lo cual la harina de pescado de mejor calidad se tiene que importar (Martínez et al., 2000). A pesar de esto la harina de pescado, es una materia prima con elevada concentración proteica y con un excelente equilibrio en la composición de aminoácidos, el contenido vitamínico del grupo B, las elevadas concentraciones de ácido fosfórico e incluso la posible existencia de un “factor de crecimiento no identificado” hace de la harina de pescado un importante ingrediente de la alimentación animal (Ludorff y Meyer, 1978).

La harina de pescado de buena calidad producida a partir del pescado entero, es un ingrediente que provee al pez de al menos 8 de los 10 aminoácidos esenciales necesarios y en proporciones adecuadas para su crecimiento, además

de otros componentes esenciales, como ácidos grasos poli insaturados, minerales, fosfolípidos y colesterol .

Aun que la utilización de la harina de pescado para la elaboración de alimentos acuícolas produce buenos resultados en la mayoría de especies cultivadas, la competencia con mercados más fuertes por esta materia prima; produce una necesidad creciente en el país de prescindir de este insumo ya que los precios han alcanzado máximos históricos en el mercado, afectando de manera directa el costo de los alimentos comerciales formulados con harina de pescado. Las dietas balanceadas comerciales, pueden contener entre un 25 y 40% de harina de pescado, por lo cual de lograr su substitución total se podría reducir de forma importante los costos de la dieta, impactando de una manera importante en los costos de producción ya que la alimentación de los organismos representa un gran porcentaje.

Otro aspecto importante es que los alimentos acuícolas elaborados con base en harina de pescado tiene efectos adversos en el ambiente, su uso produce un incremento en los niveles de (P) y (N) de las aguas de desecho en las granjas piscícolas (Flores et al., 2009), produciendo eutrofización de las aguas por adición de nutrientes, provocando aumento en la producción de fitoplancton y algas asociadas, desoxigenación del agua, especialmente al finalizar las situaciones de proliferación de algas, lo que normalmente da lugar a diversos problemas ambientales; por lo cual la substitución de la harina de pescado en dietas para organismos acuáticos además de generar una reducción en los costos de producción, puede ayudar de manera importante a disminuir el daño producido por los desechos de las granjas a ecosistemas aledaños donde son vertidos.

1.3 Fuentes de proteína alternas y dietas amigables con el ambiente.

Para aliviar el impacto negativo que generan los alimentos elaborados con harina de pescado en el uso del agua, actualmente existen a nivel mundial diferentes propuestas, siendo una de las más prácticas y económicas el uso de dietas conocidas como “DIETAS AMIGABLES CON EL AMBIENTE”. La formulación de estas dietas considera:

- a) El uso de ingredientes con una cantidad limitada de P.
- b) Que el P presente tenga una alta bio-disponibilidad
- c) Que las dietas tengan una alta tasa de digestibilidad.

Una opción que se ha propuesto para sustituir el uso de la harina de pescado es la utilización de harinas de origen vegetal, las cuales además tienen un menor costo. Entre los ingredientes de origen vegetal analizados se encuentran subproductos de semillas de oleaginosas, proteínas unicelulares, concentrados proteínicos, subproductos agro-industriales, macrófitas acuáticas, además de semillas y hojas de leguminosas.

Los resultados de estas evaluaciones son muy variados, pero predomina el hecho que niveles de inclusión altos de proteína de origen vegetal en alimentos acuícolas, producen una reducción del crecimiento y una pobre eficiencia alimentaria en los organismos que los consumen. Este efecto puede deberse al deficiente balance en nutrimentos requeridos por los organismos, a la presencia de factores anti nutricionales y a la disminución de la palatabilidad y estabilidad de los alimentos (Jorquera et al., 2008).

La soya se ha señalado como el mejor sustituto de la harina de pescado en dietas acuícolas, sin embargo al igual que la mayoría de proteínas de origen vegetal tiene una gran cantidad de anti nutrientes, los cuales limitan su uso en la formulación de dietas, uno de estos ejemplos es el ácido fítico o myo-inositol exafosfato el cual es la forma más importante de almacenaje de fósforo en las semillas, este puede producir usualmente baja disponibilidad de los minerales y

reduce la digestibilidad aparente de la proteína (Jorquera et al., 2008). La forma más eficiente de reducir este efecto es la utilización de fitasa una fosfohidrolasa que catalice la liberación secuencial del ortofosfato inorgánico del ácido fitico y tenga el potencial de mejorar la digestibilidad de los nutrientes en los organismos acuáticos (Jorquera et al., 2008). Otra forma de evitar estos efectos adversos es la utilización de productos de soya procesados como el concentrado de proteína de soya y el aislado de proteína de soya.

El APS se obtiene mediante el aislamiento de la proteína a través de un proceso de solubilización y separación por precipitación isoeléctrica tiene un 90% de proteína en base seca y se ha hecho con una gran cantidad de proteína soluble, durante el proceso del aislado de proteína de soya se eliminan la mayoría de anti nutrientes y queda como resultado un producto con una digestibilidad mayor (Cheftel et al., 1989). Se ha demostrado además que se puede incluir hasta el 62% de productos procesados de soya en una dieta para trucha arcoíris sin afectar la ingesta del alimento ni el crecimiento de los peces, muy distinto a la harina de soya la cual incluida por encima del 42% de la dieta da como resultado el deterioro del crecimiento, siendo la proporción correcta de inclusión para esta de un 24%, ya que el exceso del contenido de NSP (polisacáridos no amiláceos), oligosacáridos y saponinas tiene un efecto negativo en la absorción de los nutrientes (U.S. Soybean export council, 2008).

Tabla 1. Composición química del APS en Base Seca (BS).

Componente	Contenido en %
Proteínas	90
Lípidos	0.5-1
Carbohidratos	3-4
Minerales	4-5
Fibra Cruda	0.1-0.2

(Munive, 2009)

Otro sustituto importante de la harina de pescado es el uso de micro algas cuyo valor nutritivo está relacionado con su composición bioquímica, especialmente en proteínas, lípidos y composición de ácidos grasos. Se sabe que las micro algas pueden llegar a tener hasta un 70% de proteínas del total de la materia seca y se ha determinado que en especies de peces, los requerimientos proteicos en su dieta van de 24 a 57 %, equivalente al 30-70 % del contenido energético total de la dieta en forma de proteína, debido a esto las micro algas cumplen satisfactoriamente las necesidades de especies usadas en acuicultura (Flores et al., 2009). Una micro alga importante por sus características nutritivas es la *Spirulina* la cual se ha demostrado que puede substituir parcial o totalmente a la harina de pescado en dietas de diferentes organismos acuáticos (*Catla catla*, *Labeo rohita* y *Cipenser baeri*) (Nandeesna et. al., 2001).

En el Laboratorio de Producción Acuícola de la FES Iztacala se ha demostrado recientemente que en una inclusión creciente de polvo de *Spirulina* (25%, 50%, 75% y 100%) como sustituto de la harina de pescado en dietas para juveniles de trucha arcoíris, que hay un decremento en los parámetros de crecimiento con forma la inclusión de PS aumenta, pero también hay un decremento en la excreción de fosforo conforme se aumenta la inclusión de PS. Además se observo que con una inclusión de 25% de PS en la dieta el crecimiento en los organismos era mejor que en la dieta con 100% de harina de pescado (Flores et al., 2009).

Aunque los precios actuales en el mercado del PS pueden limitar su uso en dietas para organismos acuáticos, es importante recordar que es un sector creciente en la industria acuícola y en un futuro podría ser un recurso más accesible.

Tabla 2. Composición química del PS en Base Seca (BS).

Componente	Contenido en %
Proteínas	50-70
Lípidos	3-6.5
Carbohidratos solubles	19
Fibra cruda	5-7
Minerales	7

(Ahsan et. al., 2008)

1.4 Uso de probióticos y enzimas.

Los probióticos son “microorganismos vivos los cuales, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren efectos benéficos en la salud del huésped”.

El uso de probióticos es muy beneficioso en la nutrición animal debido a que estos ayudan a mejorar la digestibilidad de las dietas, a regular la flora bacteriana intestinal y actuar como un inmunoestimulante, por lo cual se han señalado como substitutos de los antibióticos en la elaboración de dietas comerciales; además proveen enzimas como glucosidásas y fitásas, esta ultima muy importante en la asimilación del fosforo proveniente de fuentes vegetales (Romero, 2010). Debido a esto se ha demostrado en diferentes especies animales los efectos benéficos de los probióticos en los parámetros de crecimiento (incluso con dietas con bajo porcentaje proteico), además de la reducción en los porcentajes de grasa principalmente en pollos de engorda, y su utilización como antagonicos de bacterias patógenas tanto en pollos como en salmónidos, en los cuales el *lactobacillus* y la levadura actúan como antagonicos de bacterias patógenas para el salmón, como *Piscirikettsia salmonis* (Romero, 2010).

Palacios reportó que el uso de una mezcla de pro bióticos y prebiótico en dietas para truchas arcoíris, presentan un incrementos de peso, conversión

alimenticia, sobrevivencia y relación beneficio costo frente a dietas sin esta mezcla (Palacios et al., 2007).

1.4.1 Propiedades de la levadura de cerveza como probiótico.

Gracias a sus significativas propiedades nutricionales y farmacéuticas, *Saccharomyces cerevisiae* posee el estatus GRAS (reconocimiento de total seguridad) dado por la FDA de los EE.UU. La levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) ha sido considerada como probiótico en especies domésticas, existen ya numerosos trabajos que demuestran los efectos benéficos que tienen sobre la salud intestinal (Bazay, 2010), así como su uso en el remplazo parcial del núcleo vitamínico en aves (por su alto contenido de complejo B) (Peralta et al., 2008), el efecto trófico sobre la mucosa digestiva y el estímulo inmunológico que producen los componentes de su pared celular (glucanos y mananos), que en gran medida ayudan a los organismos a evitar invasiones de microorganismos patógenos presentes en el intestino (Morales, 2007), como ejemplo; en peces se ha demostrado el efecto benéfico de la levadura en la disminución del crecimiento de microorganismos patógenos como *Amyloodinium ocellatum* y *Aeromonas Hydrofila* (Tovar, 2008).

Además de las propiedades anteriormente mencionadas se menciona en diversos estudios, la actividad que tiene la levadura sobre las disacaridasas presentes en el borde de cepillo lo cual genera una reducción en los problemas diarreicos relacionado a la producción de poliaminas, las cuales también influyen de manera importante en la secreción de tripsina y otras enzimas pancreáticas relacionadas a la actividad de las enzimas duodenales, produciendo una mejora en la asimilación de los glúcidos, lípidos y proteínas presentes en la dieta (Peralta, 2008).

Toda esta actividad en conjunto produce mejoras en el aprovechamiento de los nutrientes presentes en la dieta, repercutiendo en las variables productivas

y la composición de la canal de los animales, lo cual ha hecho frecuente su uso en dietas comerciales para aves y otros animales domesticos.

1.4.2 Proteasas.

La utilización de enzimas es frecuente para mejorar la disponibilidad de un componente específico de las dietas y en el caso de las proteasas (ejemplo, tripsina y quimotripsina) son las proteínas contenidas en el alimento, este hecho es importante sobre todo en materias primas que han recibido un tratamiento térmico que pueda alterar su digestibilidad. También es muy valioso su uso en alimentos con factores anti nutricionales que afecten la digestibilidad de la proteína, como los factores antitripsicos en la soya, por lo cual su uso es muy importante en dietas elaboradas con semillas oleaginosas como base (Rojas, 2011).

Drew reporto que la adición de proteasa comercial mejoro la digestión de proteína de harinas de canola y arvenjón así como la eficiencia del alimento (Drew, 2007).

Las proteasas que normalmente se agregan en las dietas para mejorar la disponibilidad de la proteína, son enzimas de origen bacteriano con actividad similar a las tripsinas y quimotripsinas producidas por el organismo, o extractos pancreáticos de bovinos o cerdos que contienen una alta concentración de estas dos enzimas y que conservan su actividad (Guadix et al., 2000).

La tripsina es una endoenzima que es secretada por el páncreas en forma de tripsinogeno, que se activa en un pH acido (5.2-6.0) en reacciones catalizadas por la enterocinasa. Las tripsinas son las principales enzimas proteolíticas digestivas y atacan proteínas, proteonas y peptonas para formar polipéptidos y dipéptidos. Las quimotripsinas, igualmente son secretadas por el páncreas en forma de quimotripsinogeno, y las tripsinas las activan a un pH de 8. Su actividad proteolítica es complementaria a la actividad de la pepsina y la tripsina (Shimada, 2003).

La subtilisina o serina endopeptidasa es una proteasa de origen bacteriano producida por el *Bacillus subtilis* que tiene una actividad similar a la de las quimotripsinas y la cual se ha reportado que genera un aumento significativo de la digestibilidad de la proteína en alimentos para aves, con los efectos beneficios adicionales que esto genera. Sin embargo es importante hacer notar que aun que la actividad de las proteasas tanto bacterianas como endógenas son similares, el pH optimo para la activación de estas enzimas pueden tener algunas diferencias (Guadix et al., 2000).

La proteasa que se adiciono a las dietas en este trabajo es de origen bacteriano proviene de una cepa genéticamente modificada de *Bacillus licheniformis* la cual tiene una actividad similar a la tripsina , se activa a un pH mayor a 4 e inferior a 11.5 (Guadix et al., 2000) y se conoce con el nombre comercial de Ronozyme.

1.5 Situación actual de la producción de tilapia.

En todo el mundo la producción de la tilapia especialmente, ha crecido de manera ostensible, continua y consistentemente, convirtiendo la actividad en un renglón agroindustrial de alto impacto económico y social, mediante el cual es posible generar ingresos, mejorar la calidad de vida y ofrecer alimento de alto valor nutricional a la población mundial. Según los informes de la FAO a través de su sistema de información global, entre el año 2000 y el año 2003 la producción de tilapia creció a nivel mundial en 368 mil toneladas aproximadamente, siendo los mayores productores, los países asiáticos con un millón 120 mil toneladas seguidos por África con 200 mil, América del sur con 18 mil y América del norte con 22 mil. Estos datos de FAO contrastados con los del departamento de pesquerías de EEUU indican un altísimo crecimiento en la producción y el consumo en los últimos tres años. Igualmente el valor de este comercio creció en ese mismo lapso del orden de 170 mil millones de dólares

siendo el continente asiático el de mayor facturación seguida muy de lejos por el continente Africano (CONAPESCA-SAGARPA, 2005).

El consumo de tilapia en general, en EEUU ha aumentado en los últimos 5 años. La preferencia de los norteamericanos por éste producto se manifiesta en la manera como ha mejorado su posición en la clasificación Sea Food Top Ten, donde ha pasado de 0.348 lb. Per cápita en 2001 a 1.33 (estimado) en 2005. Este incremento ha sido sostenido, no sólo por la tendencia mundial creciente por el consumo de alimentos saludables, ricos en proteínas, bajos en grasa y con ácidos grasos tipo Omega 3, recomendables para el corazón, sino por el crecimiento de la población asiática e hispana, que conoce y aprecia esta especie (CONAPESCA-SAGARPA, 2005).

El sector de la tilapia en América Latina continúa aumentando su competitividad principalmente en el sector de productos frescos e inocuos orientados hacia los grandes mercados de EU y Comunidad Europea, igualmente continúa incrementándose la demanda por tilapia en los mercados internos de Brasil, México y Colombia principalmente, de igual forma el número de consumidores de tilapia en sus diferentes presentaciones en otros países productores y exportadores también va en aumento (CONAPESCA-SAGARPA, 2005).

Las entidades de México que se dedican a la pesca y el cultivo de tilapia se agrupan en tres regiones, las del litoral del Pacífico, Las del litoral del Golfo y Caribe, y las que no tienen litoral. Tabasco se ubica en la región del litoral del Golfo y Caribe siendo la región con mas producción con el 44.9% de la producción nacional (CONAPESCA-SAGARPA, 2005).

La tilapia se cultiva en 31 estados de México, siendo los mejores sitios para su desarrollo las zonas tropicales de Veracruz, Michoacán, Tabasco, Sinaloa, Jalisco, Nayarit, Chiapas y Guerrero. Al igual que sucedió en Ecuador para México la producción de Tilapia en aguas salobres y saladas se abre como

una excelente alternativa productiva en las grandes zonas camaroneras afectadas por el Virus de la Mancha Blanca, a pesar de los serios programas de prevención implementados por las Autoridades Estatales y Federales, los Comités de Sanidad Acuícola de Estados como Sonora, Sinaloa y Nayarit, hasta el mes de Julio del 2009 el WSSV ha tenido un enorme impacto en la mayoría de las Regiones Productoras de Camarón en cautiverio a lo largo de la Costa Pacífica, y posiblemente también en las poblaciones naturales de la Región, problema que se agudiza por la situación climática, ocasionados por la anormal alternancia del Fenómeno del Niño y la Niña (CONAPESCA-SAGARPA, 2005).

1.6 Descripción de la especie.

1.6.1 Clasificación

- Reino: animal
- Phylum: chordata
- Clase: osteichthyes
- Orden: perciformes
- Familia: cichlidae
- Genero: *oreochromis*
- Especie: sp.

Tilapias es como se les conoce a un grupo de peces de origen africano, habitan principalmente en regiones tropicales del mundo, donde existen las condiciones necesarias para su reproducción y crecimiento. Fue introducida en México en la década de los 60's, proveniente de Estados Unidos. Entre sus variedades destacan la tilapia del Nilo (*O. niloticus*), la tilapia azul (*O. aureus*) y la tilapia de Mozambique (*O. mossambicus*). Las tilapias han colonizado hábitats diversos, pues es un pez de aguas cálidas, dulces, salobres o salinas que puede adaptarse a aguas con baja concentración de oxígeno, por lo que también es

común que habiten en aguas de poca corriente (lénticas), permaneciendo en zonas poco profundas y cercanas a las orillas (Morales, 1974).

La tilapia en comparación con otros peces, posee extraordinarias cualidades para el cultivo, como: crecimiento acelerado, tolerancia a altas densidades, adaptación a cautiverio, aceptación de una amplia gama de alimentos, alta resistencia a enfermedades, además de contar con algunos atributos para el mercado, como: carne blanca de buena calidad, buen sabor, poca espina, buena talla y precio accesible, que le que le confiere una preferencia y demanda comercial en la acuicultura mundial (Morales, 1974).

Tabla 3. Requerimientos ambientales de la tilapia.

Parámetros	Cantidad
Temperatura	20-30 °C, optima 26
Concentración de oxígeno	4.5 mg/l
pH	7.0-8.0

1.6.2 Hábitos alimenticios.

De forma general y en base a sus hábitos alimenticios predominantes, las Tilapias se clasifican en tres grupos principales:

a) Especies Omnívoras (que se alimentan tanto de plantas como de animales): *O. mossambicus* (especie que presenta mayor diversidad en los alimentos que ingiere), *O. nilóticos*, *O. spilurus* y *O. aureus*.

b) Especies Fitoplanctófagas (que se alimentan de las algas y organismos microscópicos conocidos como fitoplancton) *O. macrochir*, *O. alcalicus*, *O. galilaeus* y *S. melanotheron*

c) Especies Herbívoras (se alimentan exclusivamente de plantas): *T. rendalli*, *T. zillii*, *T. sparmanni*

Los dos usos más importantes del alimento absorbido son mantenimiento y crecimiento. El exceso de alimento es almacenado en forma de grasa una vez satisfechos los requerimientos (Morales, 1974).

1.6.3 Requerimientos nutricionales de la tilapia del genero *Oreochromis*

1.6.3.1 Proteínas y aminoácidos

Muchos investigadores han trabajado con dietas purificadas y semipurificadas para determinar los requerimientos proteicos de la tilapia, muchos de estos valores se han obtenido mediante procedimientos de dosis respuesta. El nivel óptimo de proteína para la tilapia está influenciado por la talla y la edad y comprende un rango de 28%-50%.

En el caso de los juveniles de entre 0.5 a 5g de peso se ha determinado que un rango de entre 29 y 40% de proteína produce un crecimiento óptimo (Webster y Lim, 2002).

Al hablar de requerimientos proteicos no podemos dejar de lado el hecho que el crecimiento depende de un proceso de síntesis de tejido, el cual utiliza los aminoácidos obtenidos de la proteína alimenticia, la cual solo sostendrá este proceso si cumple con los requerimientos de aminoácidos esenciales de la especie. En general para que una fuente proteica sea útil para sostener el crecimiento en organismos acuáticos debe poseer, al menos el 50% de aminoácidos esenciales en su composición (Cowey, 1998) .

El valor biológico de la proteína nos da un acercamiento a la composición y disponibilidad de los aminoácidos presentes, este se obtiene de restar el nitrógeno ingerido con el que es excretado (Shimada, 2003). Una excreción elevada de nitrógeno se relaciona con un aumento en el uso de aminoácidos como fuente energética; esto debido a deficiencias en aminoácidos limitantes como la lisina o la metionina, o a interacciones entre los aminoácidos presentes en la proteína, que afecten la concentración adecuada de AA

esenciales repercutiendo en la actividad de síntesis necesaria para generar crecimiento (Cowey, 1998).

La tilapia así como la mayoría de organismos acuáticos consume alimentos con un elevado porcentaje de proteínas las cuales en su mayoría son utilizadas como fuente de energía, utilizando una pequeña porción para la síntesis de tejido (crecimiento), esto quiere decir que los organismos acuáticos requieren menos fuentes energéticas no proteicas (Cowey, 1998), debido a una adaptación de su metabolismo para utilizar alimentos con una gran cantidad de proteína; sin embargo la utilización de la proteína como fuente de energía se puede reducir utilizando otras fuentes energéticas en la dieta siempre y cuando estas se ajusten a los requerimientos energéticos y proteicos de la especie, por lo cual una relación optima entre proteína y energía produce un crecimiento optimo así como un ahorro en el uso de la proteína como fuente de energía (Cowey, 1998).

1.6.3.2 Energía

La energía no es un nutriente, pero es indispensable para los organismos ya que la energía procedente de la ración se utiliza en el organismo animal para cubrir las necesidades energéticas de mantenimiento y producción (Shimada, 2003). La energía es uno de los principales factores que influyen sobre el consumo de alimento en todos los organismos, ya que los organismos ingieren alimento para satisfacer las demandas calóricas de su metabolismo, las cuales están influenciadas por factores como el peso y cantidad de masa muscular (Webster y Lim, 2002).

Es importante señalar que los peces son organismos cuyo metabolismo basal es indeterminado ya que la actividad metabólica de estos depende de la temperatura ambiental, por tal motivo los requerimientos energéticos se manejan en base a un rango, el cual es de 17-19 Mj/Kg de Energía digestible (Guillaume

et. al., 2004), que corresponde a la energía utilizada por el pez para mantener sus funciones metabólicas y generar crecimiento a una temperatura ambiental óptima (Webster y Lim, 2002). Es importante señalar que cuando se balancean dietas de organismos acuáticos se utiliza únicamente el valor la energía digestible (ED) del alimento, ya que es la cantidad de energía que el organismo puede utilizar.

Como ya se había mencionado es importante considerar la cantidad de proteína por unidad energética esto con miras en obtener un óptimo desarrollo y ahorrar proteína, los requerimientos que se han determinado para juveniles de tilapia (0.5-5g) son de 95.3-123mg de proteína/0.418Kjoules ED (Webster y Lim, 2002).

1.6.3.3 Lípidos.

Las tilapias así como la mayoría de organismos acuáticos tienen requerimientos elevados de ácidos grasos insaturados n-6 y n-3, ya que estos son de vital importancia en organismos poiquiloterms por que les confiere una mayor fluidez de membranas que les permita realizar sus funciones a temperaturas bajas, además de esto los peces tiene poca capacidad de utilizar las grasas que tienen un alto punto de fusión las grasas solidas que en general contienen ácidos grasos saturados, por tal motivo se prefiere utilizar en los alimentos para tilapia aceites vegetales o de pescado con un bajo punto de fusión y que tienen una digestibilidad más adecuada (Castello, 1993).

En el caso de la tilapia se puede prescindir del aceite de pescado ya que sus requerimientos de n-3 son mas bien bajos comparados con especies marinas o dulceacuícolas de agua fría, sin embargo habría que tener en cuenta la influencia que podría tener sobre la calidad nutricional de la grasa del filete.

Los lípidos son la principal fuente energética después de la proteína, por lo cual son utilizados principalmente para maximizar la retención de nitrógeno; sin embargo la limitante es el efecto nocivo de estos sobre el tamaño y

funcionamiento del hígado así como la composición de los organismos los cuales pueden tener un exceso de tejido adiposo afectando su rendimiento.

En un estudio realizado por Chou y Shiau con dietas isoprotéicas e isoenergéticas donde se modificó la concentración de lípidos de 0-20% se obtuvo que un 5% de lípidos es suficiente para el correcto crecimiento de la tilapia, pero que un 12% de lípidos ayuda a maximizar el crecimiento, las dietas que contenían un porcentaje mayor al 12% obtuvieron poco crecimiento (Webster y Lim, 2002). Es importante mencionar que también los requerimientos lipídicos se modifican durante las diferentes etapas de desarrollo así es más conveniente suministrar dietas con un porcentaje mayor de lípidos a organismos juveniles que tienen una demanda energética mas elevada que organismos más viejos.

1.6.3.4 Carbohidratos.

No existen requerimientos específicos de carbohidratos para los peces, en general estos organismos son poco eficientes en la absorción y utilización de estos nutrientes, así por ejemplo la trucha (*Onchorynchus*) puede vivir sin consumir ningún tipo de carbohidrato obteniendo la glucosa necesaria para su organismo de la gluconeogénesis (Castello, 1993).

Esta ineficiencia en la absorción y utilización de los carbohidratos se deben principalmente a que en el medio acuático los alimentos disponibles contienen pocos carbohidratos.

De entre los carbohidratos los monosacáridos son los menos utilizables por muchos organismos acuáticos incluyendo la tilapia, siendo los más digeribles los almidones los cuales tienen una digestibilidad del 50%, por lo cual la importancia de los carbohidratos como fuente de energía es secundaria. (Webster y Lim, 2002).

Los carbohidratos estructurales como la celulosa y hemicelulosa tienen poca digestibilidad y son poco disponibles para la tilapia del género

Oreochromis ya que la actividad de su flora bacteriana no es tan activa como en otros organismos herbívoros.

1.6.3.5 Vitaminas y minerales.

Las vitaminas y los minerales cumplen las mismas funciones tanto en organismos acuáticos como en organismos terrestres, aun que las proporciones de estas dependen de la especie. En general los requerimientos vitamínicos y minerales que se han determinado para la tilapia son los siguientes:

Tabla 4. Requerimientos de vitaminas en la tilapia

Vitamina	mg/kg de alimento
Tiamina	2.5
Riboflavina	6
Piridoxina	15
Niacina	121
Biotina	0.06
Colina	1000
Acido pantotenico	6-10
Vitamina C	79
Vitamina A	50
Vitamina D	374.8 UI
Vitamina E	60

(Webster y Lim, 2002)

Tabla 5. Requerimientos de minerales en la tilapia

Mineral	%
Calcio	0.7
Fosforo	0.5
Magnesio	0.05
Zinc	0.002
Potasio	0.21

(Webster y Lim, 2002)

1.6.4 Crecimiento.

El crecimiento de la tilapia es longitudinal. Esto es para todas las etapas de su desarrollo a partir del alevín. El crecimiento también va a depender de varios factores como son: temperatura, densidad y tipo de alimentación principalmente. La mayor tasa de crecimiento la presentan los machos de 6 a 8 meses, el crecimiento promedio de estos es de 18 a 25 cm, con un peso de 150 a 300 gr (Morales, 1974).

1.6.5 Reproducción.

Las tilapias poseen sexos separados, existiendo en muchos casos una clara diferencia entre macho y hembra, que puede ser por la coloración del cuerpo o su tamaño, siendo generalmente los machos de mayor peso y talla que las hembras. El género *Oreochromis* son incubadoras bucales, presentan un marcado dimorfismo y dicromatismo sexual, los huevos son de menor tamaño y éstos carecen de una capa adhesiva (Morales, 1974).

La temporada de reproducción abarca desde finales de marzo o principios de abril hasta mayo, cuando la temperatura del agua es aproximadamente de 20 a 22° C (Morales, 1974).

2. ANTECEDENTES

Proteínas alternativas.

Los estudios que se han realizado se enfocan en la sustitución parcial o total de la harina de pescado con productos de origen animal y/o vegetal, los resultados obtenidos han sido variables sin embargo alentadores en algunos casos. Existen en la actualidad muchos trabajos y en diversas especies respecto a la sustitución de harina de pescado usando fuentes alternas de proteínas. Por ejemplo, González et al., (2009) reportó que con una inclusión del 5, 10 y 15% de harina de *Lemna* (*Lemna minor*) y harina de Soya (*Glycine max*), en dietas para tilapia roja (*O. mossambicus x O.niloticus*) se obtuvieron resultados sin diferencia significativa en conversión alimenticia, peso final y tasa específica de crecimiento, comparada con la control con h. de pescado y h. de soya. El resultado del estudio hecho por Adewolu y Adamson, (2001) demuestra que se puede incluir hasta un 5% de harina de hoja de amaranto espinoso en las dietas para *Clarias gariepinus*.

En otra investigación realizada por Garduño y Olvera (2008), basada en sustitución parcial de harina de pescado con harina de hojas de cacahuate (*arachis hypogaea*) en dietas para juveniles de tilapia (*O. niloticus*), reporta que se puede reemplazar hasta con un 20% de harina de hoja de cacahuate sin efectos significativos en el rendimiento.

En otro estudio realizado por Amaya et. al. (2003), el cual utilizó torta de soya como sustituto de la harina de pescado durante la fase de reversión sexual en tilapia encontró que, aunque biológicamente no es viable la sustitución total de la harina de pescado por torta de soya, los parámetros productivos obtenidos con dos de las dietas T2 y T3 se pueden considerar satisfactorios al final del proceso de reversión sexual en tilapias; esto significa que la inclusión de harina de pescado en un nivel mínimo de 24,5% (T3), que representa el

33,39% de la proteína digestible de la dieta, garantiza el adecuado desempeño productivo de los peces al final del proceso de reversión sexual.

Olvera et al. (1998) Menciona que en sus dietas la más recomendable fue la de un reemplazo de 40% como máximo de harina de pescado por polvo de Spirulina (*Spirulina sp*) ya que con esta se obtuvo un mejor crecimiento en alevines. Glencross y Hawkins (2004) reportaron que el fósforo contenido en las harinas de grano de lupino (30% de sustitución por harina de pescado) fue utilizado en 100% .

El Saidy y Garber (2003) basados en su estudio de reemplazo parcial de harina de pescado por una mezcla de proteínas vegetales, reportan que estas pueden ser económicamente superiores a la harina de pescado y pueden reemplazarla completamente en la dieta para tilapia del Nilo. Wu et al. (1999) que sustituyó H. de pescado por Gluten de maíz (*Zea maíz*), Maíz alto en lisina, H. de Soya y harina de carne y hueso, en dietas de tilapia (*O. niloticus*), en cuyos resultados, no hubo diferencias significativas, en aumento de peso y conversión alimenticia, comparado con la dieta que si contiene harina de pescado. Pouomogne et al. (1997) evaluó dietas en las que varió la inclusión de harina de cascara de Cacao (*Theobroma cacao L*) y Maíz molido (*Zea maíz*), con una inclusión fija de harina de pescado, en dietas para *O. niloticus* y la conclusión, fue que sí era posible la sustitución con harina de cascara de cacao (*Theobroma cacao L*), ya que no se reportaron diferencias significativas en los parámetros de crecimiento evaluados, además de que se reduce el costo de producción por kilo de pescado con estas dietas. Fagbenro (1998) encontró que las dietas con semillas de leguminosas (soya, frijol, algarrobo), debidamente procesadas, son adecuadas para la formulación de las dietas de Tilapia del Nilo Occidental, siendo también su uso importante para substituir harina de pescado por harina de estas leguminosas, lo cual reduciría costos de alimentación y por lo tanto en la producción de los peces.

3. JUSTIFICACIÓN

En numerosos estudios como los realizados por Gonzales et. al. (2009), Adewulo y Adams (2001), Garduño y Olvera (2008), Wu et al. (1999), se ha demostrado que las harinas de fuentes de proteínas alternativas a la harina de pescado en dietas experimentales son eficientes en el crecimiento de los organismos acuáticos, de importancia comercial; sin embargo hasta el momento, en México existe poca información referente a este tema, cuando es un importante campo de investigación y una oportunidad para la producción acuícola, ya que impactan directamente en la conservación del recurso agua y en la reducción de los costos de producción y de los alimentos.

Los alimentos balanceados comerciales, son de uso común en el cultivo de la tilapia y otras especies que se explotan de forma intensiva; los cuales en su mayoría contienen porcentajes elevados de harina de pescado y producen un descenso en la calidad del agua debido a las descargas excesivas de P y N que esta produce, por lo que la sustitución de la harina de pescado por proteína de origen vegetal podría ser un campo importante de investigación aplicada en nuestro país.

4. OBJETIVOS.

4.1 General

Determinar el efecto de la adición de levadura y/o proteasa a una dieta formulada con aislado de proteína de soya (APS) y polvo de *Spirulina* (PS) en las respuestas metabólicas de juveniles de tilapia (*Oreochromis* sp.)

4.2 Particulares.

Determinar el efecto de las dietas con aislado de proteína de soya (APS) y (PS) mas levadura y /o proteasa en el crecimiento de los organismos.

Medir los cambios generados por las dietas con APS y PS mas levadura y /o proteasa en la excreción de fósforo y nitrógeno branquial

Evaluar el efecto de las dietas con APS y PS mas levadura y /o proteasa en la respuesta inmunológica de los organismos.

Determinar el efecto de las dietas con APS y PS mas levadura y /o proteasa en la cantidad de fósforo excretado.

Obtenre la composicion quimica proximal de los organismos sometidos a los tratamientos.

Determinar el efecto de las dietas con APS y PS mas levadura y /o proteasa en la conversión alimenticia

Obtener la digestibilidad aparente de la proteína de las dietas con APS y PS con la adición de levadura y /o proteasa.

5. HIPÓTESIS.

La harina de soya es un ingrediente con alto contenido de proteína vegetal, sin embargo contiene algunos componentes que pueden causar problemas en el crecimiento y desarrollo de los organismos y por tal motivo, solo puede utilizarse en porcentajes bajos substituyendo a la harina de pescado. Durante la elaboración del aislado de proteína de soya a partir de la harina de soya, diversos compuestos antinutricionales son eliminados en el proceso. Así, la adición del APS y el polvo de *Spirulina* mas el efecto benefico sobre el aprovechamiento de los nutrientes por parte de la levadura y la proteasa permitirán prescindir de la harina de pescado y obtener valores similares en crecimiento, digestibilidad y conversión alimenticia a los mostrados por la dieta comercial (con harina de pescado), mostrando además una disminución en la excreción de fósforo y nitrógeno.

6. MATERIALES Y MÉTODOS:

6.1 Formulación y elaboración de dietas

Se formularon 3 dietas experimentales, considerando la sustitución total de la harina de pescado con polvo de *Spirulina* y aislado de proteína de soya (Tabla 6) además de la adición de proteasa y/o levadura. Dichas formulaciones son similares en proteína y energía respecto al alimento comercial (APITILAPIA 1 marca Malta-Cleyton), el cual fue utilizado como dieta control y que contiene en su formulación harina de pescado.

Tabla 6. Formulación de las dietas experimentales (aparecen subrayados los ingredientes que fueron modificados en las dietas.)

Ingredientes	D1 (g/Kg de dieta)	D2 (g/Kg de dieta)	D3 (g/Kg de dieta)
Aislado de proteína de soya	340	340	340
Polvo de <i>Spirulina</i>	50	50	50
Aceite de pescado	50	50	50
Lecitina de soya	50	50	50
Mezcla vitaminas- minerales	40	40	40
Dextrina	100	100	100
Gluten	150	150	150
Proteasa	0	<u>0.8</u>	<u>0.8</u>
Levadura	<u>15</u>	0	<u>15</u>
Celulosa	<u>205</u>	<u>219.2</u>	<u>204.2</u>

Tabla 7. AQP de las dietas, experimental DE y comercial C (Anexos 7 y 8).

	Base húmeda (DE)	Base seca (DE)	Base húmeda (C)	Base seca (C)
Materia seca	95.97	100	91.45	100
Humedad total	4.03	0	8.55	0
Extracto etéreo	8.24	8.59	1.62	1.77
Cenizas	5.17	5.39	6.98	7.63
Proteína cruda	40.79	42.5	30.14	32.95
Fibra cruda	17.87	18.62	4.95	5.42
Extracto libre de nitrógeno	23.90	24.9	47.76	52.23

Las dietas se elaboraron en una amasadora de 2kg de capacidad, primero se agregaron las harinas, se mezclaron durante 15 minutos, después se agregaron los aceites y se volvió a mezclar durante 15 minutos, después se agregó el agua que debe corresponder al 40% de la dieta y en el caso de la levadura se mezcló con esta antes de ser adicionada. Al final se vuelven a mezclar todos los ingredientes durante 15 minutos, y posteriormente se pasó la mezcla a un molino de carne (Nixtamatic) para la obtención de pellets de 0.5 mm de diámetro para posteriormente ser secados en el horno a 60°C durante 24 hrs. Se hicieron 500g de cada dieta los cuales se utilizaron para la prueba de alimentación. Posteriormente se manufacturaron las mismas dietas pero agregando óxido de cromo al 1% (1g/100g) como marcador.

6.2 Prueba de alimentación.

El estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Producción acuícola de la FES Iztacala, la cual se localiza en Tlalnepantla de Baz Estado de México bajo condiciones controladas. Para dicho trabajo se utilizaron como modelo experimental a 120 juveniles de tilapia de una población de 250 organismos procedentes del centro acuícola Zacatepec Morelos, los organismos previo a la prueba se mantuvieron en un tanque de vidrio de 150 litros a una

temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y con una concentración de oxígeno de 5mg/L , durante este periodo los organismos fueron alimentados con el alimento comercial API-TILAPIA 1, el periodo de aclimatación duro aproximadamente 15 días, previo al inicio de la prueba de alimentación se aclimataron los tanques de vidrio de 15 litros que se utilizaron durante el experimento, se instalaron los tanques, filtros y calentadores y se dejaron funcionando 24 hrs antes de introducir a los organismos, también se privo de alimento a los organismos durante 24 horas antes de introducirlos a los tanques donde se llevo a cabo la prueba de alimentación, esto con la finalidad de limpiar por completo su tracto digestivo. Del tanque común donde se encontraban un total 250 organismos se muestreo y peso a 20 organismos con la finalidad de obtener la media del peso de la población la cual fue de 1.2g. Para conformar los grupos experimentales se selecciono a los organismos con peso de $1.2\text{ g} \pm 0.5\text{g}$ con la finalidad de evitar una gran desigualdad de tallas que pudiera significar una ventaja en el crecimiento y el consumo de alimento para los organismos más grandes. Se mantuvo a los organismos en grupos de 10, en 12 tanques de vidrio de 15 litros; cada dieta tuvo 3 grupos experimentales, con un total de 30 organismos por dieta. Se coloco por cada tanque un filtro mecánico biológico. El material filtrante se removía y lavaba cada semana o según lo ameritaran las condiciones del agua.

Los parámetros fisicoquímicos del agua durante el experimento fueron las siguientes:

Tabla 8. Condiciones fisicoquímicas del agua de los tanques durante el experimento

Parámetro	Unidades
Concentración de oxígeno disuelto	5mg/L
Temperatura promedio	26°C
pH	7.8

Los organismos se alimentaron con sus respectivas dietas en un porcentaje de 7% de la biomasa total por día. Las raciones diarias se dividieron en 2 porciones, que se ofrecieron a los peces en la mañana y por la tarde con un intervalo de alimentación de 6 horas, tiempo después del cual ya hay un vaciamiento gástrico en esta especie. Treinta minutos después de alimentados, se realizaba un sifoneo de cada tanque para coleccionar el alimento remanente y posteriormente determinar el consumo de las dietas, el alimento sobrante era secado en un horno a 60°C durante 24 horas y guardado en bolsas que contenían el alimento sobrante por tanque de cada 10 días; al mismo tiempo, se coleccionaron las heces para determinar la cantidad de fósforo contenido en ellas, las heces eran secadas en un horno a 60°C durante 24 horas y almacenadas juntas en bolsas que contenían las muestras por tanque de cada 10 días. Las biometrías se realizaron cada 10 días y consistían únicamente en el pesaje de los organismos en una bandeja con agua, al obtener el nuevo peso por grupo el tamaño de la ración se ajustaba de acuerdo a este. La prueba de alimentación duro 50 días realizándose en total 5 biometrías los registros de pesaje se guardaron para la obtención de los parámetros de crecimiento. También se obtuvieron 60 muestras de heces y de alimento sobrante para la obtención del fosforo total en heces y la tasa de la ingesta respectivamente. Al final de la prueba de alimentación se selecciono a 5 organismos por tanque, los cuales fueron sacrificados con una sobredosis (200mg/L) del anestésico MS222 (Tricaína metano sulfonato) (Close

et. al., 1995), posteriormente fueron eviscerados y fileteados, y se guardaron las muestras de filete y vísceras en frascos separados. Obteniendo 60 muestras de filetes y vísceras para analizar su composición.

Los organismos restantes se utilizaron para realizar la prueba de digestibilidad aparente, la cual consistió en una prueba de alimentación con una duración de 10 días, donde se utilizaron únicamente las dietas experimentales pero esta vez con la adición del 1% de óxido de cromo como marcador, el alimento se les ofreció a saciedad y se realizó la recolección de heces de manera similar a la prueba de alimentación anterior, a los organismos alimentados con la dieta control no se les realizó prueba de digestibilidad, sin embargo se les continuo alimentando con la dieta correspondiente. Posterior a esto los organismos se utilizaron para la obtención de muestras de moco, utilizado para la realización de la prueba de actividad de la lisozima, esta vez se utilizaron tanto a los organismos que entraron a la prueba de digestibilidad como los organismos alimentados durante todo este tiempo con la dieta control, se seleccionaron al azar 4 organismos por dieta. Después, de estos mismos organismos se selecciono a 9 por tratamiento para la obtención del consumo de oxígeno y la excreción de fósforo en forma de fosfato (PO_4^-) y nitrógeno en forma de (NH_3^-). La prueba consistió en lo siguiente:

Se instaló un sistema de recirculación cerrado, el cual constaba de varios frascos plásticos, conectados en serie con capacidad de un litro por los cuales se hizo pasar un flujo de agua hasta llenarlos todos, se metió en cada frasco un juvenil de tilapia con 24 horas de ayuno y se selló el frasco herméticamente, se dejó ahí durante 30 minutos, después de transcurrido el tiempo se tomaron 50ml de muestra de agua por cámara, esto para medir las concentraciones de nitrógeno amoniacal, de fósforo; y de oxígeno, estas mediciones fueron tomadas antes y después de los 30 minutos de la prueba; esto para poder evaluar el consumo de oxígeno de los juveniles, así como los cambios

en la concentración de P y N. La prueba se repitió a las 48 horas con los mismos organismos anteriormente utilizados.

6.3 Parámetros de crecimiento y sobrevivencia.

Para la medición de los parámetros de crecimiento y sobrevivencia se utilizaron los datos obtenidos de las biometrías a lo largo del periodo de alimentación.

Para evaluar los efectos de las dietas en el crecimiento de los organismos se utilizaron las siguientes formulas.

Ganancia en peso.

$$GP = \frac{PF - PI}{PI} \times 100 \text{ (PF=Peso final, PI=Peso inicial)}$$

Tasa de crecimiento específico.

$$TCE = (\logaritmo PF - \logaritmo PI / t) \times 100$$

Tasa de eficiencia de la dieta.

$$TED = GP \text{ (g)} / \text{Total de la dieta en peso seco (g)}$$

Tasa de ingesta.

$$TI = \text{total del alimento ingerido (g)/pez/día.}$$

Tasa de eficiencia proteica.

$$TEP = GP \text{ (g)} / \text{Proteína consumida (g).}$$

Sobrevivencia.

$$SV = (NFO / NIO) \times 100$$

Donde NIO= Numero inicial de organismos y NFO= Numero final de organismos.

6.4 Determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (Anexo 1).

Para determinar CDA primero se cuantifico la concentración de cromo en las heces recolectadas durante los 10 días de alimentación extras con las dietas con marcador, para esto se realizo una digestión mediante ácidos y calor según la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966), y se utilizo la siguiente fórmula:

$$\%Cr_2O_3 = \frac{Y - 0.032}{\frac{0.2089}{4}}$$

Y= Absorbancia 350nm.

%Cr₂O₃ = Porcentaje de oxido de cromo.

Para calcular la digestibilidad aparente (DA) se utilizo la siguiente formula.

$$DA (\%) = 100 - \left[\frac{(\%CH)}{\%CD} * \frac{(\%PH)}{\%PD} * 100 \right]$$

Donde:

CH=Cromo en heces.

CD=Cromo en la dieta.

PH=Proteína en heces.

PD=Proteína en dieta

6.5 Determinación de consumo de oxígeno, excreción de fosforo (P) y nitrógeno (N) (Anexo 3 y 4).

Las muestras obtenidas durante la prueba del respirómetro se procesaron de acuerdo a las técnicas de Nessler y de molibdovanato (Clesceri et

al, 1998) para N-NH₃ y PO₄ (ortofosfatos), respectivamente. Para la determinación de estos parámetros, se utilizó un espectrofotómetro. El consumo de oxígeno se determinó mediante el uso de un oxímetro (YSI 85, YSI Incorporated, Ohio, EUA).

Las heces fecales se procesaron de acuerdo a la técnica de digestión con ácido persulfato en un reactor.

6.6 Pruebas de sistema inmune no específico.

Las muestras obtenidas se tomaron de acuerdo a Yokoyama et al. (2006) con un hisopo estéril, considerando un área de 1 cm² delimitada con un plástico en la superficie del cuerpo. Justo después de tomar la muestra, esta se resuspende en 1 ml de solución buffer salina fosfatada (PSB, pH= 7.2). Las muestras se centrifugaron (7,000 rpm, 10 min, temperatura ambiental) y se colecta el sobrenadante.

Para determinar del contenido de proteína en el moco, se utilizó el kit de determinación de proteína por la técnica de Lowry et al. (1951). Para la determinación de actividad de la lisozima, se utilizó la técnica reportada por Taoka et al, 2006; en la que muestras de suero y moco, se mezclaran con una suspensión acuosa de *Micrococcus lysodeikticus* (células liofilizadas, Sigma-Aldrich Chemical, MO, EUA) y se incubará a 25 °C, la absorbancia se medirá a 530 nm a 0.5, 4.5 y 20 min. La actividad de la lisozima se expresará como unidades de actividad de la lisozima (U) y se define como la cantidad de enzima que causó un decremento en la absorbancia de 0.001 por mg de proteína.

6.7 Determinación de lípidos en musculo y vísceras (Anexo 4).

Para obtener la cantidad lípidos en el musculo y vísceras se utilizo la técnica reportada por Blight y Dyer (Blight y Dier, 1959), para los análisis proximales se usaron las muestras en base húmeda, ya que el contenido de humedad puede afectar de forma importante el porcentaje de lípidos.

6.8 Determinación de proteína en musculo y vísceras (Anexo 5).

Para determinar la proteína en musculo y vísceras se utilizó la prueba de micro-Lowry (Lowry et al., 1951), utilizando 0.01g de muestra.

Posteriormente se utilizo la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de proteína en la muestra.

$(\text{Abs}-0.0005)/0.0012=$ miligramos de proteína en la muestra.

Abs= Absorbancia.

Para pasar los miligramos de proteína a porcentaje se tomó en cuenta la dilución.

6.9 Análisis estadísticos.

Los datos de crecimiento, excreción de P y N, digestibilidad de la dietas y respuesta inmunológica obtenidos a los largo de las pruebas de alimentación se analizaron utilizando ANDEVA de una variable. La comparacion de medias entre los tratamientos, se evaluaran con una prueba de Tukey (Steel y Torne, 1980) considerando un error de 5% para cada grupo de comparaciones. Las pruebas de ANDEVA y de diferencias se realizaron con el software SPSS17.

7. RESULTADOS.

7.1 Parámetros de crecimiento y sobrevivencia.

En los parámetros de crecimiento no se encontraron diferencias significativas entre las dietas experimentales y el control, sin embargo con respecto a la GP ($p=0.20$) y la TCE ($p=0.189$) se obtuvieron valores más altos en los organismos alimentados con la dieta control y en los alimentados con la dieta con levadura y proteasa (D3) (Tabla 9). Con respecto a la TI ($p=0.12$) no existieron diferencias significativas entre las dietas y el control, sin embargo como se muestra en la tabla (Tabla 9) la TI fue menor en la (D3) con respecto a las demás dietas. Respecto a la TED ($p=0.10$) y TEP ($p=0.10$) los valores más altos aun que no significativos los registraron las dietas (D3) y el control (C) (Tabla 9).

Tabla 9. Crecimiento y supervivencia de juveniles de tilapia alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar.

	GP ¹ (%)	TCE ² (%/día)	TI ³ (g/pez/día)	TED ⁴	TEP ⁵	SV (%)
D1	240 \pm 51	1.05 \pm 0.1	0.12 \pm 0.01	0.42 \pm 0.07	1.5 \pm 0.1	90
D2	270 \pm 24	1.13 \pm 0.1	0.13 \pm 0.01	0.48 \pm 0.04	1.5 \pm 0.1	97
D3	319 \pm 32	1.24 \pm 0.1	0.11 \pm 0.01	0.54 \pm 0.08	1.8 \pm 0.1	100
C	333 \pm 61	1.26 \pm 0.1	0.15 \pm 0.02	0.53 \pm 0.06	1.7 \pm 0.2	90

¹Ganancia en peso; ²Tasa de crecimiento específico; ³Tasa de ingesta; ⁴Tasa de eficiencia de la dieta; ⁵Tasa de eficiencia de la proteína; ⁶Supervivencia.

7.2 Coeficiente de digestibilidad aparente.

El porcentaje de digestibilidad aparente de la proteína fue similar entre las dietas y no existieron diferencias significativas ($p=0.11$) entre ellas, aunque el valor más alto lo obtuvo la dieta con proteasa y levadura (D3) el cual fue de 98.8% como se muestra en la tabla (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de digestibilidad de la proteína de las dietas experimentales los datos son la media \pm el error estándar (D1= APS-levadura, D2= APS-proteasa, D3= APS-levadura-proteasa).

Dieta	CDA
D1	97.4% \pm 0.5
D2	97.9% \pm 1.2
D3	98.8% \pm 0.8

7.3 Consumo de oxígeno y excreción de fósforo y nitrógeno

En el consumo de oxígeno no existieron diferencias significativas entre las dietas experimentales y la control, sin embargo la diferencia en el aumento del consumo de oxígeno en los organismos alimentados con respecto al oxígeno consumido por los mismos 48 horas después de ingerir alimento, es mayor en la dieta con levadura (D1, $O_2C=0.45\text{mg/l/h}$) con respecto a las otras dos dietas.

En la excreción de P ($p=0.391$) y N ($p=0.445$) no existieron diferencias significativas sin embargo los valores más elevados los obtuvo la dieta con levadura (D1, fósforo en heces= 9.17mg/g y fósforo= 0.14mg/l/h) (Tabla 11 y Tabla 12). En la cantidad de fósforo en heces ($p=0.01$) hubo una reducción significativa en las dietas con levadura y proteasa (D3, fósforo en heces=

7.56mg/g) y la dieta con proteasa (D2, fosforo en heces= 6.51mg/g), con respecto a la (D1) y el control (C, fosforo en heces=14.56mg/g) como se muestra en la tabla (Tabla 12). En la Figura 1 se muestra el cambio en las concentraciones de fosforo en el transcurso del experimento.

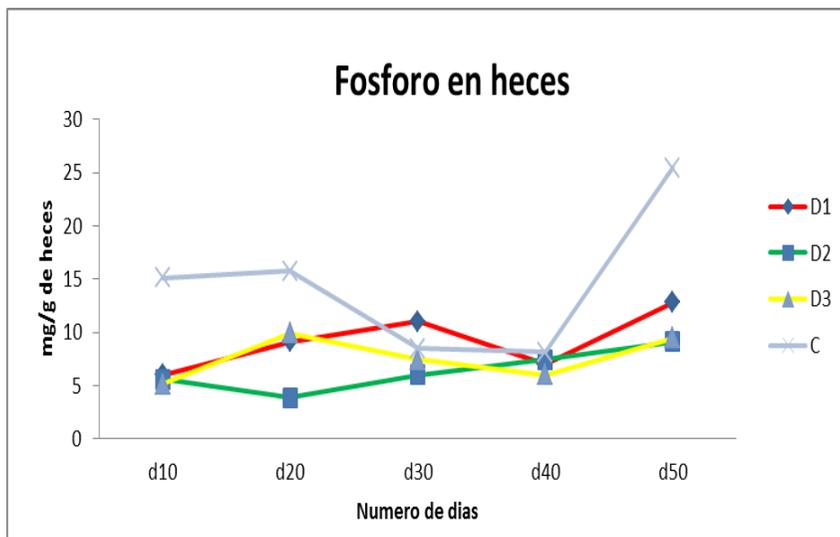
Tabla 11. Consumo de oxígeno, excreción de N de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar. Letras diferentes en la mismo columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

	(mg/l/h)	
	O ₂ C	N
D1	0.45 \pm 0.2	0.03 \pm 0.01
D2	0.36 \pm 0.18	0.01 \pm 0.008
D3	0.32 \pm 0.16	0.02 \pm 0.007
C	0.27 \pm 0.16	0.02 \pm 0.007

Tabla 12. Excreción de P y contenido de P en heces de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar. Letras diferentes en la mismo columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

	P (mg/l/h)	P en heces (mg/g)
D1	0.14 \pm 0.1	9.17 \pm 3a
D2	0.07 \pm 0.03	6.51 \pm 2.4b
D3	0.12 \pm 0.1	7.56 \pm 2.8b
C	0.13 \pm 0.1	14.56 \pm 6a

Figura 1. Cantidad de fósforo en heces (mg/g) de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Se muestra la modificación de las concentraciones en el transcurso del experimento: día 10, día 20, día 30, día 40 y día 50.

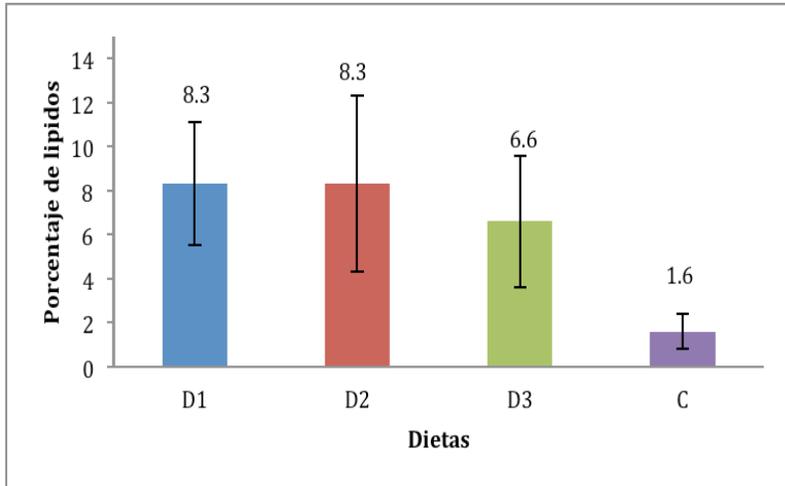


7.4 Composición química.

7.4.1 Lípidos.

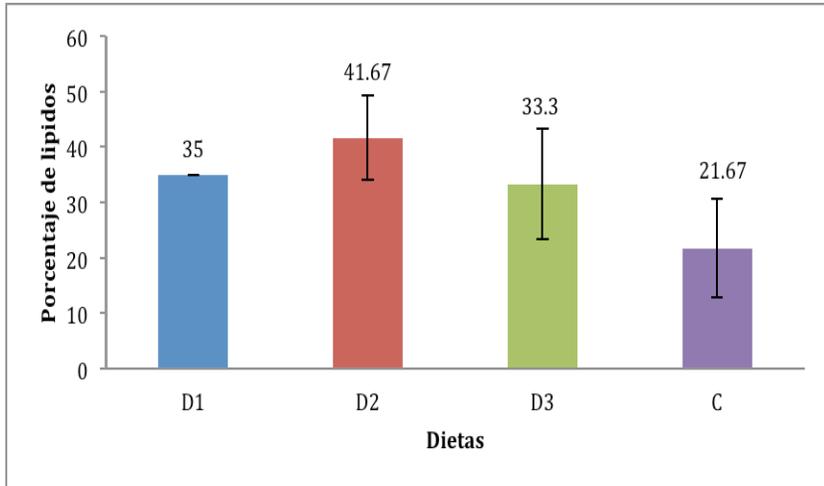
El porcentaje de lípidos en los filetes no mostro diferencias significativas ($p=0.256$), pero los valores promedio en los filetes de los organismos alimentados con las dietas experimentales tienen en su composición un porcentaje de 8.3% para las dietas (D1) y (D2) y de 6.6% para la dieta (D3), valores mas altos que la dieta control (C) con un 1.6% (Figura 2). El promedio más bajo entre las dietas experimentales lo obtuvo la dieta (D3), que sin embargo dista de acercarse a los valores de la dieta control (C) que fueron los más bajos en general.

Figura 2. Promedio del porcentaje de lípidos en musculo de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar.



El porcentaje de lípidos en vísceras no mostró diferencias significativas ($p=0.07$) entre los individuos alimentados con las dietas experimentales y los alimentados con la dieta control, tampoco existieron diferencias significativas entre los grupos alimentados con las dietas experimentales. Aun sin diferencias significativas, las dietas experimentales obtuvieron valores promedio de 35% (D1), 41.67% (D2) y 33.3% (D3) mayores al de la dieta control (C) de 21.56% en el porcentaje de lípidos en vísceras, lo cual es similar a lo que sucedió con el porcentaje de lípidos en filete. Entre los promedios de las dietas experimentales solo el de la dieta (D2) destaca en la grafica con el promedio de lípidos más alto de 41.67%.

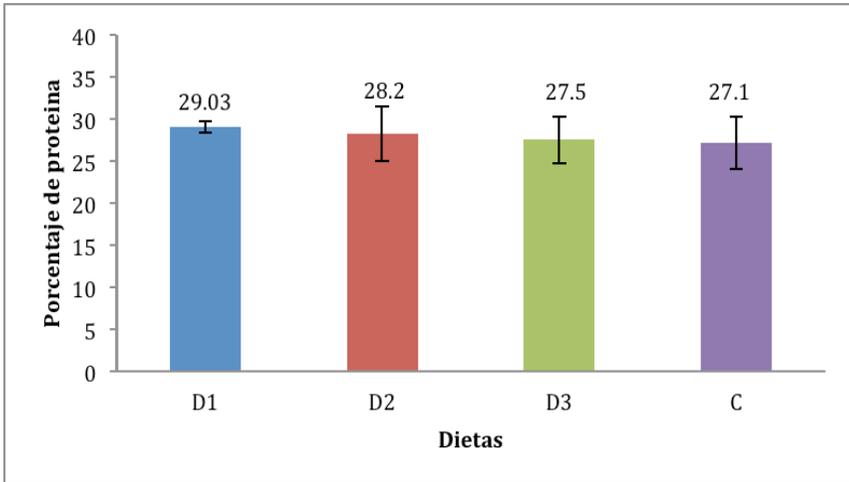
Figura 3. Promedios por dieta del porcentaje de lípidos en vísceras de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar.



7.4.2 Proteínas.

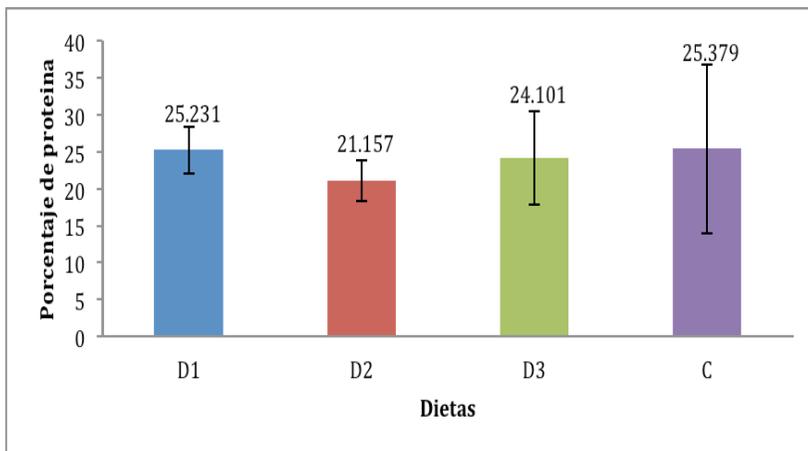
En el porcentaje de proteína en músculo no se encontraron diferencias significativas ($p=0.20$) entre los diferentes tratamientos con respecto a este parámetro, aun así existió variación encontrando los valores promedio más elevados en las dietas (D1) de 29% y (D2) de 28.2%, respecto a las dietas (D3) y (C) con 27.56% y 27.1% respectivamente (Figura 4).

Figura 4. Porcentaje promedio de proteína en musculo de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar (BH= Base Húmeda).



Con respecto al porcentaje de proteína en vísceras no hubo diferencias significativas ($p= 0.20$) y la variación fue menor que la que mostro el porcentaje de proteína en musculo. Sin embargo el promedio más alto se registro en los individuos alimentados con la dieta control (C) de 25.37% (Figura 5).

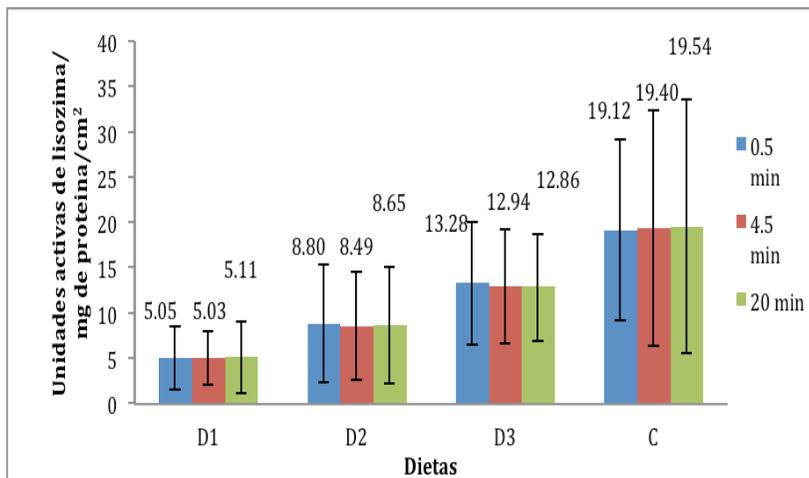
Figura 5. Porcentaje de proteína en vísceras de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar.



7.5 Prueba de sistema inmune no específico (Actividad de lisozima en moco).

Respecto a la actividad de la lisozima en moco por centímetro cuadrado de superficie de piel, no se obtuvieron diferencias significativas ($p=0.45$) sin embargo existieron variaciones importantes en los promedios de unidades activas de lisozima en cada dieta ,las cuales se muestran en la siguiente tabla (Figura 6), donde podemos observar una mayor cantidad de unidades de lisozima activa promedio en los organismos alimentados con la dieta control (C) con 19.54 Unidades/mg de proteína y en segundo lugar los organismos con la dieta (D3) con 12.86 Unidades/mg de proteína.

Figura 6. Unidades de lisozima activas por dieta/ minuto/cm² de los organismos alimentados con las dietas con APS y PS (D1, D2, D3) y dieta comercial (C). Los datos son la media \pm error estándar.



8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran que la utilización del APS y el PS pueden producir una respuesta similar en crecimiento a los alimentos comerciales que contienen harina de pescado, la cual incluso puede ser superior como fue en el caso de la dieta (D3) que obtuvo un crecimiento muy parecido (GP= 319%) con un consumo menor (TI=0.11) obteniendo una TED= 0.54 superior al resto de las dietas incluida la control TED= 0.53 (Tabla 9), esto difiere de lo observado por diferentes autores que utilizaron harina de soya como sustitutos de la harina de pescado como fue el caso de Yueming Dersjant-Li (2002) el cual menciona que la inclusión de la harina de soya está limitada por su bajo contenido de metionina que afecta de manera significativa en el crecimiento en la mayoría de los organismos, y lo que reporto Davis y Stickney (1978) que utilizaron harina de soya en substituciones parciales de la harina de pescado en juveniles de tilapia y que observaron reducciones significativas en el crecimiento de los organismos al superar el 30% de substitución con harina de soya, estos valores en los parámetros de crecimiento mostrados por los organismos puede deberse en parte a la adición de PS que posee un mejor perfil de aminoácidos al de la soya contribuyendo a una mayor deposición de proteína, así como también al efecto positivo de la proteasa en la reducción de la energía empleada en la asimilación de las proteínas, sin embargo la influencia producto de la probable actividad de la lavadura en la asimilación de los carbohidratos y la utilización de los lípidos como fuente de energía también jugo un papel importante en el crecimiento complementando la actividad de la proteasa como se observo en la dieta (D3) la cual con una GP=319% y una TED=0.54 fue la mas eficiente de las dietas experimentales.

Aunque las diferencias en los parámetros de crecimiento no fueron significativas si hay una tendencia en las dietas experimentales que muestran que

la disponibilidad de los nutrientes y el balance de estos no fue igual en todas, como se puede observar en las diferencias existentes entre las dietas (D3) y (D1) que se muestran en la tabla de crecimiento y supervivencia (Tabla 9), esta tendencia entre las dietas experimentales también se hace evidente al comparar el consumo de O_2 y la excreción de N, las cuales son muy distintas entre la dieta (D1 $O_2C= 0.45$ mg/l/h, $N= 0.03$ mg/l/h) y (D3 $O_2C=0.32$, $N=0.02$), siendo mas similar la (D3 $O_2C=0.32$, $N=0.02$) a la control (C $O_2C=0.27$, $N=0.02$) (Tabla 11), hay que recordar que el consumo de oxígeno antes y después de suministrar el alimento nos da una aproximación al gasto energético de forma indirecta que requieren las dietas para su utilización (ICA) (Guillaume et al., 2004), lo cual hace que una dieta que consume el mínimo de O_2 muestre mejores valores de crecimiento ya que se relaciona con una fácil asimilación de los nutrientes, dando un acercamiento a la digestibilidad del alimento.

Al contener las dietas una gran cantidad de proteína se debe acentuar el peso de esta fracción sobre el consumo de oxígeno, así como también la probable influencia de la proteasa en la reducción de dicho consumo, ya que reduce el esfuerzo del organismo por digerir la proteína presente en el alimento, como observamos en las diferencias presentes entre las dietas experimentales con proteasa (D2 y D3) y la dieta experimental libre de esta (D1) donde se obtuvieron valores mas altos en el consumo de oxígeno al resto de las dietas.

Los resultados de la digestibilidad aparente de la proteína fueron de 97.4% para la dieta (D1), 97.9% para la (D2) y 98.8% para la (D3), no mostrando diferencias significativas entre las dietas y coincidiendo con la digestibilidad reportada en la literatura para el APS la cual es de 97.8% para la trucha arcoíris (Glencross et al., 2004), los resultados de digestibilidad se relaciona en gran medida como ya se había mencionado con el consumo de oxígeno y la excreción amoniacal en donde vemos una relación inversa entre el aumento de la digestibilidad de la proteína, el consumo de oxígeno y la

excreción de nitrógeno, la cual podría estar influenciada por la actividad de la proteasa (Tablas 10, 11, 12). No hay que perder de vista el hecho de que esta prueba puede dar valores sobrestimados de la digestibilidad ya que no se toma en cuenta la proteína endógena normalmente eliminada en el tránsito del alimento por el tracto digestivo (Guillaume et al., 2004).

La digestibilidad de un alimento no solo influye en la absorción de macronutrientes si no también puede afectar de manera importante en la absorción de minerales y vitaminas, por lo cual podría repercutir sensiblemente sobre el sistema inmunológico y la capacidad del organismo a responder ante una amenaza (Gershwin et al., 2000).

En cuanto a la excreción de nitrógeno, la excreción amoniacal en los peces y crustáceos está estrechamente relacionada con el metabolismo de las proteínas (Sadasivam, 2000) y por lo tanto con el porcentaje de esta fracción en el alimento como lo reporta Velasco et al. (2000) que observó que la acumulación de Nitrógeno inorgánico disuelto total (NIT) incrementó significativamente con el aumento en la cantidad de proteína en dietas para camarón. Sin embargo más recientemente se ha demostrado que para poder reducir la excreción amoniacal debemos de aumentar la disposición en las dietas de una adecuada proporción de aminoácidos esenciales para síntesis de tejido y reducir en lo posible la utilización de los aminoácidos como fuente de energía (Arango, 2008); por lo tanto al tener dietas con niveles proteicos y energéticos similares (dentro de los requerimientos de la especie) las diferencias en la excreción de N pudieron deberse principalmente a la cantidad y disponibilidad de aminoácidos esenciales, que están muy relacionados a la digestibilidad y composición de la proteína del alimento.

En este estudio se encontró poca variación entre las dietas en la excreción amoniacal (NH_3) y solo se presentó una disminución no significativa

de la dieta (D2 N=0.01) (Tabla 11), esta baja producción de NH_3 puede estar relacionada a una mayor producción de aminoácidos digeribles, debido a que la cantidad de aminoácidos en las dietas puede afectar la retención del nitrógeno (Romarheim et al., 2006), y ya que las dietas experimentales contienen las mismas proteínas y en la misma proporción la reducción en la excreción de N podría estar mayormente influenciada por la actividad de la proteasa, que genera un aumento de aminoácidos disponibles con un gasto menor en la digestión de la proteína, lo cual en conjunto genera un efecto positivo sobre el crecimiento (D2 GP=270%).

Sin embargo la proteína no es la única fracción que puede afectar el crecimiento, ya que la energía digestible (ED) del alimento y su relación con el porcentaje de proteína condicionan el metabolismo de los aminoácidos presentes en ella (Cowey, 1998), por otra parte la energía neta (EN) utilizada por el organismo para generar crecimiento esta influenciada por el ICA (incremento calórico alimenticio) cuyo indicador indirecto es el consumo de oxígeno (Guillaume et al., 2004) y el cual aunque esta mayormente influenciado por la fracción proteica también puede ser afectado por la digestión y el metabolismo de los carbohidratos y en menor medida los lípidos presentes en el alimento, por tal motivo la dieta (D3) aun que mostro una excreción de NH_3 similar a la dieta control (C) (D3 N= 0.02, C N= 0.02), obtuvo una TED (D3=0.54, C= 0.53) y TEP (D3=1.8, C=1.7) (Tabla 9 y 11) superior a la dieta control (C) y un consumo de oxígeno inferior al resto de las dietas experimentales (D1 O_2C =0.45, D2 O_2C =0.36, D3 O_2C =0.32), lo cual se puede relacionar a una mejor retención de energía que se manifiesta como crecimiento, consecuencia de el efecto positivo de la proteasa sobre la proteína y el probable efecto positivo de la levadura sobre la asimilación de los carbohidratos y la utilización de los lípidos como fuente energética, esto relacionado con su elevada concentración de

vitaminas del complejo B, y principalmente a la actividad de la Biotina (Vilches y Fernández 2005).

Las harinas animales que en general presentan un perfil de aminoácidos más cercano al ideal y que poseen una digestibilidad mayor a las proteínas vegetales, se han utilizado como sustitutos de la HP en diversos trabajos, donde el crecimiento de los organismos generalmente es mayor, como en el estudio realizado por Civera et al., (2006) que utilizó harina de cerdo como sustituto parcial y total de la harina de sardina en dietas para juveniles de tilapia y en el cual obtuvo una GP en un lapso de 56 días mayor al 350% (la cual también podría estar influenciada por otros factores no relacionados a la composición del alimento como la temperatura, el fotoperiodo y la frecuencia de la alimentación) superior a la GP (333% dieta control (C) y 240% dieta (D1)) obtenida por los organismos en el presente estudio. Sin embargo la utilización de la proteína de soya a diferencia de las proteínas animales reduce las pérdidas de fósforo y mejora la retención de este (Medale et al., 1998), lo cual genera un impacto positivo sobre el medio ambiente, esta característica se debe principalmente a que la concentración de fósforo disponible en las proteínas vegetales son mucho menores al de las proteínas animales (El APS por ejemplo tiene 0.5% de fosforo disponible y 0.27% de calcio (Honig et al., 1984), el PS tiene 0.73% de fosforo y 1% de calcio (Ramirez y Olvera, 2006) y la harina de pescado tiene 2.20% de fosforo disponible y 3.9% de calcio (NRC, 1983)), y el nivel de fosforo dietario es determinante en la excreción de este al medio como lo reporta Velasco et al., (2000), que observo que la acumulación de fósforo reactivo disuelto (PRD) en el agua se incrementó significativamente con el aumento de los niveles del fósforo dietario.

Disminuir los niveles de fósforo en las heces y orina es un asunto muy importante en la sustentabilidad de la acuicultura, pero de la misma importancia es garantizar el correcto desarrollo de los organismos por lo cual siempre hay

que vigilar que la cantidad de P en la dieta sea adecuada ya que de no ser así puede traer como consecuencias el aumento de lípidos en vísceras, un bajo crecimiento en los organismos o hasta problemas de osificación (Tacon, 1995), por lo cual se ha establecido un requerimiento mínimo para la tilapia de 0.5% de fosforo disponible (Massamitu et al., 2008) el cual se suplemento junto con otros minerales y vitaminas con una mezcla mineral comercial (Rovimix) siguiendo las recomendaciones de la FAO (Philips, 1997).

La asimilación del fósforo se lleva a cabo en el intestino y guarda estrecha relación con la absorción del calcio y también con la solubilidad de la fuente de fósforo, la excreción del fósforo a su vez guarda relación con los niveles de calcio y fosforo en la sangre así como la regulación acido- básica en el organismo, su eliminación es en el riñón a través de la orina obedeciendo a la concentración de calcio y fosforo en sangre (Arias, 2003).

La disminución significativa en heces nos demuestra una buena disponibilidad de este macro elemento en las dietas experimentales (D2 P en heces= 6.51mg/g y D3 P en heces= 7.56 mg/g), este hecho se refuerza aun más al no observar ningún tipo de alteración por déficit en los organismos alimentados con las dietas experimentales (Tabla 12). La excreción de P en orina además de no mostrar diferencias significativas presento poca variación solo encontrándose disminuida en la dieta (D2 P= 0.07 mg/l/h) y en menor grado en la dieta (D3 P=0.12 mg/l/h), dado que la excreción de fósforo a través de la orina puede estar influenciada por otros factores no relacionados con la disposición del fósforo en la dieta, la variación puede tener diferentes interpretaciones; pero en general se observa una menor excreción en las dietas que mostraron una disminución de P en heces. Es importante señalar el posible efecto de la levadura en el aumento de la disponibilidad del fosforo, ya que estos microorganismos producen la enzima fitasa (Bazay, 2010) que degrada los fitatos, los cuales se encuentran en APS y que generaron cambios en la concentración de fosforo en

heces en las dietas experimentales (D1)y (D3) con levadura, con respecto a la dieta (D2) en el transcurso de la prueba de alimentación, como se puede observar en la grafica de P excretado en heces (Grafica 1) donde se muestra que la dieta (D2) permaneció constante en sus concentraciones de fosforo en heces a diferencia de las dietas (D1) y (D3) .

La disminución de impacto ambiental como lo demuestra el presente trabajo depende de obtener una retención lo mejor posible de N y un nivel adecuado de P disponible en las dietas, es decir un aprovechamiento al máximo de las dietas por parte de los organismos lo cual también debe generar un buen crecimiento y un producto de calidad, por tal motivo la composición química de las canales de los organismos utilizados durante la prueba de alimentación nos puede indicar el verdadero aprovechamiento de los nutrientes como lo observo Jover et al., (1999), el cual reporta que hubo un incremento del contenido en lípidos y una reducción de la proteína corporal a medida que se redujo el nivel proteico del alimento y aumentó el nivel de carbohidratos, o lo observado por Viola y Arieli (1983), que registraron un contenido de lípidos en vísceras elevado con piensos con un nivel energético alto, esto es similar a lo reportado en el presente estudio donde vemos diferencias amplias aun que no significativas de la deposición lipidica la cual es mayor en los organismos alimentados con las dietas experimentales, si bien la utilización de alimentos con elevada energía puede tener un efecto benéfico sobre la deposición de proteína, el exceso puede traer como consecuencia disminución del consumo y un crecimiento pobre afectando de igual forma la deposición proteica como lo observo Jover et al. (1999), aun así el contenido de lípidos en los organismos puede ser variable y depende de factores como el estado fisiológico, la cantidad de ejercicio realizado, la edad y la genética por lo cual los niveles de lípidos varían mucho, Garduño y Muñoz (2007) reportan porcentajes de lípidos en músculo de hasta un 5.7% en las tilapias procedentes de las granjas, mientras Perea et al. (2008)

reporta rangos de 2.2-4.5% , en el presente estudio los rangos fueron entre 1.5-8.3% registrados por la dieta (C) y (D1), (D2) respectivamente (Figura 2), en general obteniendo valores más elevados en la deposición de lípidos en músculo por las dietas experimentales.

Los niveles más elevados de lípidos se obtuvieron en las vísceras llegando en la dieta (D2) hasta 41.67% muy por encima de la control (C) con apenas 21.67% (Figura 3), esta similitud con los trabajos antes mencionados indica una nivel energético más elevado en las dietas experimentales probablemente más influenciado por la fracción lipídica ya que la dieta control es bastante pobre en lípidos (Tabla 7) y la deposición proteica tanto en filete como en vísceras fue muy similar entre los organismos, lo cual demuestra que no existió ninguna influencia de las dietas experimentales en esta fracción.

Respecto a la deposición lipídica en vísceras se observó una disminución (aun que no significativa) en las dietas que contenían levadura (D1=35%, D3=33.3%), se sabe que existe una relación entre la adición de este probiótico y la reducción de grasa abdominal en pollos (Linares et al., 2010) esto probablemente relacionado a la elevada cantidad de biotina producida por la levadura, la cual disminuye los niveles de triglicéridos sanguíneos por su importancia como cofactor de la ACC (Coenzima A Carboxilasa 1 y 2) (Vilches y Fernández 2005).

Los valores de proteína en filete obtenidos (29% D1 a 27.1% en la C) fueron incluso superiores a lo reportado por la literatura citada que es de 18-20% (Perea et al., 2008), lo que refuerza el hecho de que la deposición lipídica elevada en los filetes no tuvo efecto alguno sobre la deposición proteica (Figura 4).

Los resultados de actividad de la lisozima en el moco concuerdan con, lo que nos menciona la literatura consultada la cual relaciona los parámetros de crecimiento con una mayor inmunocompetencia, partiendo del hecho de que la inmunocompetencia no se ve afectada mientras se cuente con los sustratos suficientes (nutrientes) para favorecer el crecimiento del organismo y la producción de células inmunitarias y sus secreciones (Gershwin et al., 2000).

Las diferencias aun que no son significativas muestran una tendencia de mayor actividad de la lisozima en los organismos alimentados con las dietas más eficientes en crecimiento (D3) y (C) (Figura 6). La actividad de dicha enzima no está por completo ligada a la nutrición si no también a factores ambientales (temperatura, contaminación bacteriana, salinidad etc.) (Giacomo, 2008) que pueden influenciar en su producción y actividad. Aunque en si la deficiencia crónica de algunos micronutrientes (vitamina A, hierro, selenio y vitaminas del complejo B.) puede impactar mayormente sobre la inmunocompetencia que los macro nutrientes como la proteína y la energía, el balance de aminoácidos contenidos en las proteínas alimentarias puede repercutir en la respuesta inmunológica debido a que durante una respuesta inmune el organismo realiza una mayor movilización de proteínas en los tejidos para sostener la proliferación de leucocitos y sus productos de secreción uno de los cuales es la lisozima (Gershwin et al., 2000).

Por último es importante mencionar que el papel de la levadura en la respuesta inmune no especifica no se pudo demostrar en la actividad de la lisozima en moco ya que los grupos que consumieron las dietas experimentales que contenían levadura no mostraron mayor actividad de dicha enzima, excepto en la dieta que además contenía proteasa (D3).

9. CONCLUSIONES.

- El uso de APS y PS como fuentes de proteína en dietas para tilapia no afectaron el crecimiento ni la sobrevivencia de los organismos.
- La inclusión de levadura y/o proteasa en las dietas experimentales no generó respuestas significativas en el aprovechamiento de las dietas y la respuesta inmune inespecífica.
- Las dietas con APS y PS disminuyeron significativamente la concentración de fósforo en heces y la dieta D2 y D3 fueron las más eficientes, esto debido a la buena disponibilidad del fósforo en las dietas.
- La dieta menos adecuada fue la dieta D1 ya que mostró los niveles más altos de excreción de P y N metabólicos y los peores índices de crecimiento.
- La dieta D3 es la dieta más adecuada, ya que es la que muestra los índices más altos de crecimiento, los índices más bajos de fósforo en heces, e índices similares a la control en la excreción de P y N metabólico.
- La digestibilidad aparente de la proteína en las dietas experimentales no presentó diferencias significativas en ninguna de las dietas.
- La APS y PS como fuentes de proteína no afectan significativamente la composición de los organismos, sin embargo al parecer hubo un aumento en la deposición lipídica en vísceras y músculo en los organismos alimentados con las dietas experimentales sin afectar la deposición de proteína en estos tejidos, esto debido quizá a la utilización de aceite de pescado para suplementar los requerimientos lipídicos y no por la fracción proteica de las dietas experimentales.

- El APS y PS son muy buenos recursos proteicos vegetales en dietas para tilapia (*Oreochromis sp.*), ya que generan un crecimiento igual al de la dieta comercial.

10. LITERATURA CITADA.

ADEWOLU Y ADAMSON 2001. *Amaranthus spinosus* Leaf Meal as Potential Dietary Protein Source in the Practical Diets for *Clarias gariepinus* Fingerlings. International Journal of Zoological Research, Academic Journals Inc., USA.

AHSAN M., HABIB B., PARVIN MASHUDA 2008. A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034. Department of Aquaculture Bangladesh Agricultural University Mymensingh, Bangladesh.

AMAYA R. E. A., L. E. PEZZATO, L. G. Q. PINTO 2003. Sustitución de harina de pescado por torta de soya en dietas para tilapia nilótica (*oreochromis niloticus*) durante la fase de reversión sexual, Universidad Nacional de Colombia.

ARANGO J. I. 2008. Nuevos conceptos en Nutrición y alimentación de Tilapia. Proteína ideal y uso de enzimas, DSM Nutritional Products Huila Colombia

ARIAS P. 2003. Metabolismo fosfocálcico: Bases fisiológicas de la práctica médica. Editorial Panamericana Bogotá Colombia.

BAZAY DULANTO G. 2010. Uso de los probióticos en la alimentación animal con énfasis en *Saccharomyces cerevisiae* Sistema de Revisión en Investigación Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Revisión bibliográfica Peru.

BLIGH, E.G. Y DYER, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol.37:911-917 USA.

CANAINPESCA 2009. Boletín informativo Pesca Mexicana. Pag; 3-5

CASTELLÓ ORVAY. F 1993. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Barcelona (España).

CHEFTEL J. C., CUQ J., LORINET D. 1989. Proteínas alimentarias bioquímica propiedades, funciones, valor nutricional y modificaciones químicas. Editorial Acribia. Zaragoza (España). Pag; 257-269

CIVERA C. R., GOYTORTÚA B. E., ROCHA M. S., Y RONDERO A. D., ALFONSO A. G. C. Y ÁVALOS H. N. 2006. Evaluación de la sustitución

parcial y total de harina de sardina con harina de cerdo en alimentos para juveniles de la tilapia del Nilo *oreochromis niloticus*: efecto sobre la supervivencia, el crecimiento y la utilización del alimento. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, división académica de ciencias biológicas informe técnico final del proyecto de investigación.

CLESCERI, L. S., A. E. GREENBERG & A. E. EATON. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th. American Public Health Association. Washington, D.C., U.S.A. 1325 p.

CLOSE B., BANISTER K., BAUMANS V., BERNOTH E., BROMAGE N., BUNYAN J., WOLFF E., FLECKNELL P., NEVILLE G., HANSJOACHIM H., MORTON D. & WARWICK C. 1995. Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 2. publicado por la Comisión Europea.

CONAPESCA/SAGARPA 2005. Anuario estadístico de acuicultura y pesca. Edición 2005. Comisión nacional de acuicultura y pesca Mazatlán Sinaloa México.

COWEY C .B 1998. Utilizacion de aminoacidos en peces. Department of Zoology, University of Aberdeen Scotland, UK.

DAVIS, A.T. AND STICKNEY, R.R., 1978. Growth responses of *Tilapia aurea* to dietary protein quality and quantity. Trans. Am. Fish. Soc., 107: 479-483 Texas, USA.

DEPARTAMENTO DE PESCA Y ACUICULTURA DE LA FAO 2010. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma (Italia). Pa.;3-17, 68-71

DREW, BORGESON, THIESSEN 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. Animal Feed Science and Technology, Canada. Pag; 118-136.

EL-SAIDY D. M. S. D. Y GARBER M.M.A 2003. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein source in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) (L). Diets. Aquaculture research. Department of Poultry Production, Faculty of Agriculture, University of Minufiya, Shebin El-Kom, Egypt. Pag;1119-1127.

FAGBENRO O.A., 1998 Apparent digestibility of various legume seed meals in Nile tilapia diets. *Aquaculture International* Pag;83–87.

FLORES G. M., HERNÁNDEZ H. L. H., FERNÁNDEZ A. M., ANGELES L.O., RAMÍREZ P. T. 2009. Effects of *spirulina* powder as substitute of fish meal in diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Laboratorio de Producción Acuícola, UNAM-FES Iztacala (Mexico).

FURUKAWA, A. & H. TSUKAHARA. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 32: 502-506.

GARDUÑO L. M., OLVERA N. M. A. 2008. Potential of the use of peanut (*Arachis hypogaea*) leaf meal as a partial replacement for fish meal in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Aquaculture research* Pag; 32-36. CINVESTAV. Mexico.

GARDUÑO L. M., MUÑOZ C. G. 2007.El bajo nivel de lípidos en la carne de tilapia, puede ser una característica explotable comercialmente por los productores, *Desarrollo acuícola México*.

GERSHWIN E., GERMAN J. B., KEEN C. L. 2000. *Nutrition and immunology*. Humana Press New York USA.

GIACOMO Z. 2008. *Fish defenses*. Enfield New Hampshire Science USA.

GLENCROSS, B. D., C. G. CARTER, N. DUIJSTER, D. R. EVANS, K. DODS, P. MCCAFFERTY, W. E. HAWKINS, R. MAAS, AND S. SIPSAS. 2004. A comparison of the digestibility of a range of lupin and soybean products when fed to either Atlantic salmon (*Salmo salar*) or rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* Pag; 333–346 Australia.

GLENCROSS, B. Y HAWKINS, W. 2004. A comparison of the digestibility of lupin (*Lupinus* sp.) kernel meals as dietary protein resources when fed to either, rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* or red seabream, *Pagrus auratus*. *Aquacult. Nutr.* Department of Fisheries – Government of Western Australia. Pag; 65-73.

GONZALES S. R., ROMERO C. O., VALDIVIE N. M. 2009.Utilización de harina de lenteja de agua en dietas para tilapia, *Industria acuícola*. Facultad de Medicina Veterinaria Universidad de Granma Cuba. Pag; 10-12

GUADIX, A.; GUADIX, E. M., PÁEZ-DUEÑAS M. P., GONZÁLEZ-T. P. Y CAMACHO F. 2000. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas Technological processes and methods of control in the hydrolysis of proteins, Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Granada. 18071 Granada. España. *Ars Pharmaceutica*, 41:1; 79-89, 2000.

GUILLAUME J., S. KAUSHIK, P. BERGOT, R. METAILLER 2004. Nutrición y alimentación de peces y crustáceos, Mundi-prensa Mexico.

HONIG D. H., WOLF W. J., RACKIS J. J. 1984. Phytic Acid and Phosphorus Content of Various Soybean Protein Fractions. , Northern Regional Research Center, Agricultural Research Service, U.S.

JORQUERA, M., MARTÍNEZ O., MURAYAMA F., MARSCHNER P. & MORA M.L. 2008. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase

JOVER C. M., L. PÉREZ I., L. ZARAGOZA Y J. FERNÁNDEZ CARMONA 1999. Crecimiento de tilapias (*oreochromis niloticus*) con piensos extrusionados de diferente nivel proteico. Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica. Valencia (España).

LINARES, M.J.; PERALTA, M.F.; MIAZZO, R.D.; NILSON, A.J. 2010. Efecto de la Levadura de cerveza (*S. cerevisiae*) asociada con vitamina E sobre las variables productivas y la calidad de la canal de pollos parrilleros Unidad de Investigación Aviar, Producción Avícola, Dpto. Producción Animal, Fac. de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.

LOWRY O.H., ROSEBROUGH W.J., FARR A.L. & RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*, 193, 265-275.

LUDORFF W. Y V. MEYER 1978. El pescado y los productos de la pesca. Editorial Acribia. Zaragoza (España). Pag; 237-245

MARTINEZ P. A. C., CHEVEZ S. M. C., OLVERA N. M. A., ABDO DE LA PARRA M. I. 2000. Fuentes alternativas de proteínas vegetales como substitutos de la harina de pescado. *Avances de nutrición acuícola III UANL*. Pag; 279-325

MASSAMITU F. W., FUJII K. M., DENA D. L., SOUZA DE CASTRO S. T.,

ROSA DA SILVA L., PINSETA S. P. J. 2008. Available phosphorus requirements of juvenile Nile tilapia. Brasil. Zootec. vol.37 no.9 Viçosa Sept.

MÉDALE, F., VALLÉE, F., BLANC, D., MAMBRINI, M., ROEM, A., KAUSHIK S., 1998. Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. Aquat. Living Res., 11 (in press) Cambridge University.

MORALES, A. 1974. Datos biológicos. El cultivo de la tilapia en México. Instituto Nacional de la Pesca. INP/si: 24-25 p.

MORALES L. R. 2007. Las paredes celulares de levadura de *saccharomyces cerevisiae*: un aditivo natural capaz de mejorar la productividad del pollo de engorde, Memorias presentadas para acceder al grado de Doctor dentro del programa de producción animal del departamento de ciencia animal y de los alimentos, Barcelona, junio.

MUNIVE L. P. A. 2009. Elaboración de un suplemento alimenticio en polvo para consumo humano a partir de una mezcla de hidrolizado de soya y almidón de maíz, proyecto previo a la obtención del título de ingeniero agroindustrial. Quito Colombia.

NANDEESHA M.C., GANGADHARA B., MANISSERY J. K., VENKATARAMAN L. V. 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. College of Fisheries, University of Agricultural Sciences, Mangalore, India. Pag: 117-120.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, SUBCOMMITTEE ON WARMWATER FISH NUTRITION, COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION, BOARD ON AGRICULTURE 1983. Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes, National Academy Press.

OLVERA N. M.A., DOMÍNGUEZ C. L.J., OLIVERA C. L., MARTÍNEZ P. C.A. 1998. Effect of the use of the microalgae *Spirulina maxima* as fish meal replacements in diets for tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters), fry. *Aquaculture*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. (CINVESTAV).

PALACIOS J., SANTANDER C., ZAMBRANO A., LÓPEZ J. 2007. Evaluación comparativa de prebióticos y probióticos incorporados en el alimento comercial sobre el crecimiento y la sobrevivencia de una especie nativa, el sábalo amazónico (*Brycon melanopterus*) y una especie foránea, trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola Colombia. Año II; vol. 2:191-229.

PERALTA, M. F., MIAZZO, R. D. Y NILSON, A. 2008. Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) en la alimentación de pollos de carne - Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in feed brioles, Unidad de Investigación Aviar, Depto.de Producción Animal, Fac. de Agr. y Vet. Universidad Nacional de Río Cuarto. 5800-Río Cuarto, Córdoba, Argentina. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504 Volumen IX Número 10.

PEREA A., GÓMEZ E., MAYORGA Y., CORA Y. T. 2008. Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia, Archivos latinoamericanos de nutrición, Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, Vol. 58 N° 1.

PHILIP S. C. 1997. Aquaculture feed and fertilizer resource atlas of the Philippines, FAO fisheries technical paper, Rome Italy.

POUMOGNE V., TAKAM G., POUEMEGNE J. 1997. A preliminary evaluation of cacao musks in practical diets for juvenile Nile tilapia (*oreochromis niloticus*) Aquaculture International Pag; 2211-219.

RAMIREZ M. L., OLVERA R. R. 2006. Uso tradicional y actual de la Spirulina sp. (*Arthrospira* sp.), interciencia, septiembre, Caracas Venezuela 31:657-663 Res. 29: 709-715.

RAMIREZ D. T. 2008, Probioticos en acuicultura: avances recientes del uso de levaduras en peces marinos, 237-257pp. Editores: L Elizabeth Cruz Suarez, Denise Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto Lopez, David A Villareal Cavazos, Juan Pablo Lazo y Ma Teresa Viana. Avances en nutricion acuicola IX, IX simposio internacional de nutricion acuicola, 24-27 de noviembre Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Monterrey Nuevo Leon Mexico.

ROJAS M. M. P. 2011. Uso estratégico de enzimas en nutrición animal. DSM nutritional products Pag; 5-11.

ROMARHEIM O.H., SKREDE A., GAO Y., KROGDAHL A., DENSTADLI V., LILLEENG E., STOREBAKKEN T. 2006. Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). University Guelph. Aquaculture Pag;354–364 Canada.

ROMERO J. 2010. Alimentación del Salmón Perspectivas del Uso de Microorganismo para Mejorarla. Laboratorio de Biotecnología INTA Universidad de Chile Acuaindustria. Pag; 72-73

SADASIVAM J. K. 2000. Factores que Afectan la Excreción Nitrogenada en Teleósteos y Crustáceos. Fish Nutrition Laboratory, Saint-Pée-sur-Nivelle, France.

SHEPHERD J. 2006. Harina, aceite de pescado y acuicultura. International Fish meal and Fish oil Organisation, puerto Montt Chile.

SHIMADA M. A. 2003. Nutrición animal. Editorial Trillas, México 388p.

STEEL, R. D. G. AND J. H. TORRIE. 1980. Principles and procedures of statistics, a biometrical approach. McGraw-Hill, New York, New York, USA.

TACON A. G.J 1995. Ictiopatología nutricional signos morfológicos de carencia y toxicidad de los nutrientes en los peces cultivados, FAO documento técnico de pesca.

TAOKA, Y., MAEDA, H., JO, J.Y., JEON, M.J., BAI, S.C., LEE, W.J., YUGE, K., KOSHIO, S. 2006. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fish. Sci.* 72: 310-321.21 Japan.

U.S. SOYBEAN EXPORT COUNCIL 2008. Soy protein concentrate for aquaculture feeds, Technical bulletin. St Louis Missouri U.S.A.

VELASCO M., ADDISON L., LAWRENCE Y. H. NEILL W. 2000. Efectos de la proteína y el fosforo dietario en la calidad de agua de acuicultura, Avances de nutrición acuícola III UANL México.

VILCHES F. A. , FERNÁNDEZ M. C. 2005. Efecto de la biotina sobre la expresión genética y metabolismo, Unidad de Genética de la Nutrición. Instituto Nacional de Pediatría. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Revista de Investigación Clínica / Vol. 57, Núm. 5 / Septiembre-Octubre, 2005.

VIOLA, S., Y ARIELI, Y. 1983. Evaluation of different grains as basic ingredients in complete feeds for carp and tilapia in intensive culture. Bamidgeh Israeli Journal, Pag; 38-43.

WEBSTER, C. D. & C. E. LIM. 2002. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CABI Publishing, New York, New York, USA. Pag; 184-202.

WU Y. V., KERRY F., P. B. BROWN, R. R. ROSATI 1999. Substitution of plant proteins or meat and bone meal for fish meal in diets of Nile tilapia North American Journal of aquaculture. Pag;58-63

YOKOYAMA, S., KOSHIO, S., TAKAKURA, N., OXIDA, K., ISHIKAWA, M., GALLARDO-CIGARROA, F.J., CATA CUTAN, M.R., TESHIMA, S.-I. 2006. Effect of dietary bovine lactoferrin on growth response, tolerance to air exposure and low salinity stress conditions in orange spotted grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*. 255: 507-513 Japan.

YUEMING DERSJANT-LI. 2002. The Use of Soy Protein in Aquafeeds, ADM Specialty Ingredients Division. Stationsstraat 76, 1541 LJ Koog aan de Zaan The Netherlands.

ANEXO 1.

Determinación del porcentaje de cromo en heces.

1. Se pesan 0.05g de heces secas (con cromo) y se coloca en un matraz de bola.
2. Se agregan 5ml de HCl y se calienta con un mechero en una campana de extracción.
3. Se calienta hasta que se eliminen todos los vapores ocre y el líquido se vuelva verde traslucido después de esto se espera a que se enfríe.
4. Se agregan 3 ml de ácido perclórico y se calienta hasta que aparezca una nube blanca arriba de la muestra y la muestra se vuelva amarilla.
5. Enfriar y si la solución se vuelve a poner verde se tiene que calentar de nuevo, si aparece un anillo rojo ya está lista la muestra para ser medida.
6. Se lleva la muestra a 25 ml (Con agua) y se lee en el HACH (espectrofotómetro) en la opción de longitud de onda única y se mide la Absorbancia (Flores et al., 2009).

ANEXO 2.

Medición del nitrógeno excretado.

1. Se colocan 16.6ml de muestra en una cubeta de espectrofotometría
2. Se adiciona 2 gotas de estabilizador y se agita suavemente
3. Se adicionan 2 gotas de alcohol polivinílico y se agita de nuevo
4. Se agregan 0.66ml del reactivo Nessler y se deja reaccionar durante 1 minuto
5. Los resultados serán reportados en el HACH (espectrofotómetro) en mg/L (Clesceri et al., 1998).

ANEXO 3.

Medición del fosforo excretado.

1. Se colocan 10ml de muestra en una cubeta de espectrofotometría
2. Se adiciona 0.5ml de molibdovanadato
3. Se deja actuar durante 7 minutos
4. La cantidad de fosforo aparecerá en mg/L ya que existe un programa para determinar el fosforo total (Clesceri et al., 1998)

ANEXO 4.

Determinación de lípidos en vísceras.

1. Se pesa 0.2 g de muestra (base húmeda).
2. Se deposita en un tubo de centrifuga, se agregan 3ml de metanol y 1.5 ml de cloroformo.
3. Se agita durante 2 minutos en un vaso con hielo para evitar la evaporación.
4. Se agregan 1.5 ml mas de cloroformo y se agita durante 2 minutos con hielo.
5. Se pasa a la centrifuga y se pone a 5000 rpm durante 10 minutos
6. Se pasa el sobrenadante a un embudo de separación se agregan 0.8 ml de agua y se agita. Si forma dos capas se separa la porción inferior, si no se formaron agregar 2 gotas de agua y volver a agitar, si se llegaron a formar 3 capas preparar 1 ml de clorometanol y agregarlo.
7. Una vez separada la capa inferior, secar en un tubo de ensayo mediante aireación.
8. Con unos guantes pesar un frasco ámbar y después diluir el contenido del tubo de ensayo con 1ml de clorometanol y colocarlo en el frasco ámbar.
9. Secar la solución del frasco ámbar mediante aireación

10. Volver a pesar el frasco ámbar para obtener una diferencia de peso que es proporcional al % de lípidos en la muestra (Bligh y Dier, 1959).

ANEXO 5.

Determinación de proteína en musculo.

1. Se pesa la muestra (0.01g en base húmeda)
2. Se deposita en un tubo de ensayo y se agrega 1ml de agua destilada y se agita durante 2 minutos.
3. Se agregan 1ml de reactivo Lowry y se deja reaccionar durante 20 minutos
4. Pasados los 20 min agregar 0.5 ml del reactivo Follin y esperar 30 minutos
5. Aforar a 10ml y leer en el HACH (espectrofotómetro) en la opción de longitud de onda única y se mide la Absorbancia (Lowry et al., 1951).

ANEXO 6.

Medición de fosforo en heces.

Método 10127 Test N Tube Vials:

1. Se enciende el reactor (digestor) DRB200 y se calienta a 150°C
2. Se selecciona el programa de fosforo, se debe esperar hasta que la temperatura marcada sea de 150°C para que comience el cronometro del aparato.
3. Se prepara el blanco con una pipeta de 5.0ml de H₂O destilada a un tubo de total phosphorus test Ntube Vial.
4. Para preparar las muestras se agregan 5ml de muestra a un tubo de total phosphorus Test N Tube Vial.
5. Posteriormente se agrego el contenido de un sobre de persulfato de potasio en polvo (potassium persulfate powder pillow), cada tubo se cerró y agito para disolver la muestra.
6. Una vez que el reactor se encuentra a 150°C se introducen los tubos tapados en los compartimentos.
7. Se presiona la opción TIMER>OK y comienza cuenta regresiva de 30 minutos.
8. Una vez terminado se sacan los tubos y se dejan enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente.
9. Se agregan 2 ml de hidróxido de sodio al 1.54 N a cada tubo, se tapa y se mezcla.
10. Se dejan reposar los tubos durante 7 minutos
11. Limpiar los tubos antes de leer, tomar primero el tubo blanco y calibrar a cero
12. Se introducen los tubos preparados y se leen, se oprime READ y se leen los resultados en mg/L PO₄ (Clesceri et al., 1998).

ANEXO 7.

A. Q. P. De la dieta basal experimental



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Solicitante: Universidad Nacional Autónoma de México
Muestra: Alimento para peces verde # 1
Análisis solicitado: Químico proximal

RESULTADOS

	Base húmeda	Base seca
Materia seca	95.97	100.00
Humedad total	4.03	0.00
Extracto Etéreo	8.24	8.59
Cenizas	5.17	5.39
Proteína cruda	40.79	42.50
Fibra cruda	17.87	18.62
Extracto Libre de Nitrógeno	23.90	24.90

Cuautillán Izcalli, México a 06 de marzo del 2012

Atentamente,
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Q. B. Lilián Morán Loyden
Responsable del área de Bromatología

ANEXO 8.

A. Q. P. De la dieta control C



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Solicitante: Universidad Nacional Autónoma de México
Muestra: Alimento para peces café # 2
Análisis solicitado: Químico proximal

RESULTADOS

	Base húmeda	Base seca
Materia seca	91.45	100.00
Humedad total	8.55	0.00
Extracto Etéreo	1.62	1.77
Cenizas	6.98	7.63
Proteína cruda	30.14	32.95
Fibra cruda	4.95	5.42
Extracto Libre de Nitrógeno	47.76	52.23

Cuautillán Izcalli, México a 06 de marzo del 2012

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Q. B. Lilián Morfín Loyden
Responsable del área de Bromatología

