

UTILIZACION DE TIERRA DE DIATOMEAS LAVADAS EN ACIDO COMO RELLENO NO NUTRITIVO PARA CAMARONES PENEIDOS

Porcham Aranyakananda y Addison L. Lawrence

**Shrimp Mariculture Project, Texas Agricultural Experiment Station,
Texas A & M University System, P.O. Box Q, Port Aransas,
Tx, USA 78373**

Traducción: Roberto Mendoza Alfaro y Jesús Montemayor Leal

INTRODUCCION

Las ventajas de utilizar fuentes puras de nutrientes en lugar de ingredientes prácticos para formular dietas para la investigación nutricional, son que se puede agregar o excluir un solo nutriente de una dieta sin cambiar el resto de los nutrientes (Maynard et al. 1979). A este respecto, se ha desarrollado una dieta semi-pura en el Shrimp Mariculture Project, Texas A & M University System, para investigar los requerimientos de minerales y vitaminas para *P. vannamei* (Davis, et al. 1992a, b; He et al. 1992).

Para poder utilizar estas dietas semi-puras a fin de determinar los requerimientos de nutrientes para los camarones peneidos, todos los requerimientos dietarios deben ser mantenidos constantes a excepción de aquel nutriente cuyo requerimiento va a ser determinado. Para obtener niveles diferentes de el nutriente en cuestión y mantener los niveles del resto de los nutrientes constantes, se requiere de un relleno no nutritivo. Este relleno no nutritivo no debe afectar la disponibilidad de nutrientes para los camarones peneidos.

La celulosa purificada ha sido ampliamente utilizada como relleno no nutritivo para muchos animales. Sin embargo, Ali (1982) reportó que el polvo de celulosa utilizado como relleno no nutritivo en dietas puras afectaba la palatabilidad de las dietas para *P. indicus* y sugirió que el nivel máximo de inclusión de celulosa requería ser investigado. Borrer y Lawrence (1989) investigaron los efectos de la celulosa (0-12%) sobre la digestibilidad de nutrientes en *P. vannamei* y reportaron que la celulosa disminuía la digestibilidad de la materia seca pero no la digestibilidad proteica de las dietas puras. Estos reportes sugieren que la celulosa no debe de ser utilizada como relleno no nutritivo.

Davis, et al (1992a, b) utilizaron tierra de diatomeas lavada en ácido como relleno no nutritivo para variar los niveles de minerales en dietas experimentales para camarones peneidos.

Sin embargo, no se han llevado a cabo investigaciones de los efectos de este relleno alternativo. El objetivo de este estudio fue investigar si la tierra de diatomeas lavada en ácido puede ser utilizada como relleno no nutritivo para los camarones peneidos determinando el efecto de esta sobre la digestibilidad aparente de nutrientes de *P. vannamei*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Individuos de *P. vannamei* fueron cultivados desde postlarva en tanques, en las instalaciones de la Universidad de Texas A & M, Shrimp Mariculture Project, Port Aransas, Texas. 10 camarones (6.2 ± 1.6 g de peso promedio) fueron colocados en tanques individuales rectangulares de fibra de vidrio (0.34 m² área de fondo). Estos tanques no tenían sustrato y fueron mantenidos como parte de un sistema de recirculación semicerrado de 80 toneladas métricas de agua marina. El sistema fue diseñado para mantener constantes las condiciones ambientales tales como la temperatura del agua, salinidad, oxígeno disuelto y fotoperiodo.

Una composición basal de una dieta semi-pura modificada a partir de Davis (1992a, b) y He, et al. (1992) es presentada en la Tabla 1. Un diseño factorial de 3X3 con tres niveles de proteína (25, 35 y 45%) y tres niveles de lípidos (5, 8 y 11%) fue empleado para obtener 9 dietas con diferente tasa de proteína: energía (Tabla 2). Los niveles de proteína cruda y de lípidos fueron variados remplazando la mezcla de proteína con carbohidratos y el aceite de pescado con tierra de diatomeas lavada en ácido, respectivamente. Todas las dietas contenían 0.5% de óxido crómico como marcador inerte para estimar los valores de digestibilidad aparente.

Todas las dietas fueron preparadas mezclando los ingredientes secos en una mezcladora vertical durante 20 minutos y transferidos a un mezclador de alimentos antes de adicionar el aceite de menhaden. Después de adicionar el aceite, los ingredientes fueron mezclados durante 5 minutos, tiempo después del cual se agregó agua caliente (90°C) desionizada en cantidades apropiadas, el producto resultante se agitó durante 10 minutos adicionales hasta formar una pasta. La pasta fue extruída a través de un molino de carne, utilizando un dado de 3 mm de diámetro. Los pellets fueron secados en una estufa a 60°C durante 4 horas, resultando en un contenido de humedad de 8-10%. Después de que los pellets fueron enfriados, el alimento fue reducido manualmente a la talla deseada (1 cm de largo) y congelados hasta ser utilizados.

Tabla 1. Composición de la dieta control 1

INGREDIENTE	PESO SECO (%)
Caseína ²	38.8
Gelatina ²	9.7
Almidón de trigo ²	26.5
Aceite de menhaden ³	11
Tierra de diatomeas lavada en ácido ⁴	0.5
Lecitina (refinada de soya) ²	1
Colesterol ²	0.5
Mezcla mineral AIN 76 ⁴	4
Mezcla vitamínica ²	4.5
Alfa celulosa ⁴	1
Oxido crómico ⁵	0.5
Carboximetilcelulosa ⁶	2

¹Conteniendo 45% de proteína, 12.5% de lípidos, 3% de fibra y 6% de ceniza.

²I.C.N. Biochemical Inc., Cleveland, Ohio, U.S.A.

³Zapata Haynie Corp., Reedville, Virginia, U.S.A.

⁴Sigma Chemical Company, Cleveland, Ohio, U.S.A.

⁵Fisher Scientific, Fair Lawn, New Jersey, U.S.A.

⁶United States Biochemical Corporation, Cleveland, Ohio, U.S.A.

Tabla 2.- Composición de ingredientes 1 y tasas de proteína: energía para las dietas experimentales.

Número de dieta	Mezcla proteica ² (%)	Almidón de trigo	Aceite de pescado ³ (%)	Tierra de diatomeas (%)	Proteína cruda ⁴	Energía bruta (kcal/kg)	Tasa Proteína: Energía (mg/kcal)
1	48.5	26.5	5	6.5	43.9	4260	106
2	48.5	26.5	8	3.5	43.2	4414	102
3	48.5	26.5	11	0.5	43.9	4720	95
4	37.5	37.5	5	6.5	34.6	4235	83
5	37.5	37.5	8	3.5	35.5	4421	79
6	37.5	37.5	11	0.5	32.7	4749	74
7	27	48	5	6.5	25.2	4200	60
8	27	48	8	3.5	24.5	4403	57
9	27	48	11	0.5	24.2	4586	55

¹ Todos los ingredientes presentados en la Tabla 1 fueron mantenidos constantes a excepción de la mezcla proteica (Caseína y Gelatina), el almidón de trigo, el aceite de pescado y la tierra de diatomeas lavada en ácido.

² Consiste en una tasa de caseína:gelatina de 4:1.

³ Se obtuvieron diferentes niveles de aceite de pescado reemplazando cantidades equivalentes de aceite de pescado con tierra de diatomeas lavada en ácido.

⁴ Se obtuvieron diferentes niveles de proteína cruda reemplazando cantidades equivalentes de la mezcla proteica con cantidades equivalentes de almidón de trigo.

Los camarones fueron mantenidos en dos tanques durante un periodo de aclimatación de dos semanas antes de la iniciación de los bioensayos de digestibilidad. Los organismos fueron alimentados con dietas comerciales (45% de proteína) en exceso dos veces al día durante esas dos semanas. Cada dieta experimental (tres replicados por tratamiento) fue suministrada a los camarones cuatro veces al día a las 08:00, 10:00, 13:00 y 15:00 horas durante los 7 días de duración del bioensayo de digestibilidad. La colecta fecal comenzó a los 30 minutos después de cada alimentación durante los últimos 4 días, pero la primer colecta fecal de cada día fue eliminada. Las muestras fecales fueron lavadas con agua desionizada y congeladas inmediatamente para análisis subsecuentes. Las muestras fecales de cada día y de cada tratamiento fueron reunidas y liofilizadas.

El alimento y las muestras fecales fueron analizados para determinar el oxido crómico por el método de McGinnis y Kasting (1964). El nitrógeno fue determinado por el método de micro-Kjeldahl descrito por Ma y Zuazago (1942). La proteína cruda fue estimada multiplicando el valor de nitrógeno por un factor de 6.25. El contenido de energía bruta fue determinado utilizando una microbomba calorimétrica siguiendo los procedimientos de Phillipson Company, Chicago, Illinois. Todas las determinaciones químicas fueron hechas por triplicado y reportadas en base a materia seca.

La digestibilidad de materia seca aparente de proteína y de energía fueron calculadas de acuerdo a la ecuación:

$$\text{Digestibilidad aparente de nutriente} = 100 \times [1 - (\text{Fn}/\text{Dn})(\text{Di}/\text{Fi})]$$

donde: Fn = nutrientes en las heces

Fi = indicador en las heces

Dn = nutrientes en el alimento

Di = indicador en el alimento

Los datos fueron analizados utilizando el Sistema de Análisis Estadísticos (SAS Institute Inc. 1988). Un análisis de varianza para una clasificación de dos vías para un modelo de efectos fijos (Montgomery, 1984) fue utilizado para determinar las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las medias de los tratamientos debidas a los efectos principales, los niveles de proteína y tierra de diatomeas lavada en ácido y sus interacciones. Los análisis estadísticos para determinar la significancia de los niveles de los tratamientos fueron procesados utilizando la prueba de rango múltiple de Student-Newman-Keuls (Steele y Torrie, 1980).

RESULTADOS

Las medias + desviaciones standard para la salinidad, temperatura y oxígeno disuelto en el sistema de cultivo fueron 26.4 + 1.9 ppt, 28.5 + 1.7°C y 6.5 + 1.0 ppm, respectivamente.

La digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS) para las dietas experimentales fue significativamente diferente de acuerdo al nivel de inclusión de tierra de diatomeas lavada en ácido (Tabla 3). La DAMS aumento a medida que el nivel de tierra de diatomeas disminuía. Los cambios del porcentaje fueron 94 versus 97 versus 100. No existieron diferencias significativas de DAMS debido al nivel de proteína, y la interacciones entre los niveles de proteína y los niveles de tierra de diatomeas no fueron significativas.

Tabla 3. Digestibilidad aparente de la materia seca (%) de dietas conteniendo diferentes niveles de proteína y tierra de diatomeas lavada en ácido para *P. vannamei*.¹

Nivel de Proteína (%)	Nivel de tierra de diatomeas lavada en ácido			
6.5	3.5	0.5	Promedio ²	
25,00	83.06 + 1.09	86.85 + 0.85	89.37 + 0.50 87.36	
35,00	84.70 + 0.44	87.06 + 1.13	89.63 + 0.16 86.89	
45,00	84.74 + 0.23	86.38 + 0.34	89.53 + 0.32 86.42	
Promedio ³	84.39 ^a	86.77 ^b	89.51 ^c	
% de cambio	94,00	97,00	100,00	
ANOVA (P>>F)				
Proteína		0.11		
Tierra de diatomeas		0		
Interacción		0.18		

¹ Los valores son medias + DS de 3 replicados

² Las medias de las columnas no son significativamente diferentes (P>>0.05)

³ Las medias que no comparten el mismo superscript son significativamente diferentes (P<<0.05)

No se encontraron diferencias significativas en la digestibilidad aparente de proteína (DAP) debido a la proteína o los niveles de tierra de diatomeas y las interacciones entre estos dos factores tampoco fueron significativas (Tabla 4).

Tabla 4. Digestibilidad aparente de proteína (%) de dietas conteniendo diferentes niveles de proteína y tierra de diatomeas lavada en ácido para *P. vannamei*.¹

Nivel de Proteína (%)	Nivel de tierra de diatomeas lavada en ácido			
6.5	3.5	0.5	Promedio ²	
25,00	97.69 + 0.43	98.20 + 0.43	97.52 + 0.43 97.55	
35,00	98.09 + 0.87	97.97 + 0.24	97.52 + 0.41 97.86	
45,00	97.79 + 0.48	97.75 + 0.48	98.38 + 0.54 97.97	
Promedio ³	97.6	97.97	97.81	
% de cambio				
ANOVA (PF)				
Proteína		0.48		
Tierra de diatomeas		0.59		
Interacción		0.29		

¹ Los valores son medias + DS de 3 replicados

² Las medias de las columnas no son significativamente diferentes (P>>0.05)

³ Las medias de los renglones no son significativamente diferentes (P>>0.05).

Los valores de digestibilidad aparente de energía (DAE) fueron significativamente diferentes debido al nivel de proteína pero no al nivel de la tierra de diatomeas (Tabla 5). Sin embargo, los cambios de porcentaje en DAE debido a los niveles de proteína fueron extremadamente pequeños (98 versus 99 versus 100). Las DAE de las dietas conteniendo los menores niveles de proteína (25%) fueron diferentes de aquellas conteniendo los niveles mas altos de proteína. No se encontraron diferencias significativas en la interacción entre los niveles de proteína y los de tierra de diatomeas.

Tabla 5. Digestibilidad aparente de energía (%) de dietas conteniendo diferentes niveles de proteína y tierra de diatomeas lavada en ácido para *P. vannamei*.¹

Nivel de Proteína (%)	Nivel de tierra de diatomeas lavada en ácido (%)					
	6.5	3.5	0.5	Promedio ²	% de recambio	
25,00		92.01 + 0.65	92.69 + 0.30	93.19 + 0.89	92.63a	98,00
35,00		93.69 + 0.58	92.89 + 0.87	93.95 + 0.33	93.51b	99.9
45,00		93.16 + 0.08	94.49 + 0.37	93.41 + 1.06	93.69c	100,00
Promedio ³		92.95	93.35	93.52		
ANOVA (PF)						
Proteína			0.02			
Tierra de diatomeas			0.32			
Interacción			0.11			

1 Los valores son medias + DS de 3 replicados

2 Las medias que no comparten el mismo superscript son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

3 Las medias de los renglones no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

DISCUSION

La digestibilidad aparente de nutrientes de las dietas formuladas para varias especies de camarones peneidos ha sido determinada utilizando el método indirecto, en donde se emplea oxido crómico como marcador inerte (Colvin, 1976; Teshima y Kanazawa, 1983; Smith et al. 1985; Akiyama, et al. 1989; Borrer y Lawrence, 1989; Catacutan, 1991). El oxido de cromo ha sido reportado como un marcador inapropiado para determinar los valores de digestibilidad en la langosta americana (Bordner, et al. 1983) ya que pasa selectivamente antes de los productos de deshecho de la digestión y no se mezcla homogéneamente con la materia fecal. En el cangrejo de río, se ha observado el mismo problema y el consumo es insignificante (Brown, et al. 1986).

En este estudio, el color de las heces producidas por *P. vannamei* fue verde y homogéneo a todo lo largo de la producción de las heces. La evidencia de que el oxido de cromo pasa selectivamente antes que los productos de deshecho de la digestión, no fue observada en este

estudio. Por consiguiente, el óxido de cromo parece ser un marcador indirecto apropiado para estudiar la digestibilidad en los camarones peneidos.

La DAMS de las dietas experimentales se vio significativamente afectada por el nivel de tierra de diatomeas. La DAMS aumentó a medida que el nivel de tierra de diatomeas disminuyó o a medida que el nivel de lípidos aumentó. Se ha reportado que los lípidos son digeridos eficientemente por *P. japonicus* (Teshima y Kanazawa, 1983), y *P. monodon* (Catacutan, 1991). Borrer y Lawrence (1989) reportaron que la DAMS fue afectada por el tipo de lípidos pero no por el nivel de lípidos. La tierra de diatomeas lavada en ácido fue digerida pobremente o no digerida del todo por *P. vannamei* (Akiyama, et al. 1989). En el presente estudio, los valores de la DAMS disminuyeron en función de la cantidad de tierra de diatomeas lavada en ácido en las dietas. Estos datos indican que la tierra de diatomeas lavada en ácido no fue digerida por *P. vannamei*. De aquí que la DAMS parezca ser afectada por el nivel de tierra de diatomeas y no por el nivel de lípidos.

La DPA de las dietas experimentales no se vio afectada por ningún factor. Las proteínas puras tales como la caseína y la gelatina son eficientemente digeridas por *P. vannamei* (Akiyama, et al. 1989). El nivel de proteína en las dietas experimentales varió de 25 a 45% y no afectó a la DPA. Catacutan (1991) reportó que la DPA no se veía afectada por los niveles de carbohidratos en niveles que variaban de 5 a 35% de la dieta. En este experimento, los niveles de carbohidratos en las dietas experimentales variaron de 26.5 a 48% y no afectaron la DPA.

Se ha reportado que la tierra de diatomeas lavada en ácido induce cantidades mayores de nitrógeno fecal metabólico en *P. vannamei* que la celulosa y la quitina (Akiyama, et al. 1989) los cuales subsecuentemente reducen la DPA. Este efecto de la tierra de diatomeas no fue observado en este experimento. La razón puede ser que el nivel de tierra de diatomeas lavada en ácido utilizado en este experimento (0.5 a 6.5% de la dieta) fue extremadamente bajo comparado con el 88% de la dieta usada por Akiyama, et al. (1989).

Los valores de DAE de las dietas experimentales se vieron afectados únicamente en el menor nivel de proteína. Debido a que la muestra de proteína fue remplazada por almidón de trigo para bajar el nivel de proteínas en las dietas, la DAE también pudo ser afectada por el nivel de carbohidratos.

Típicamente, la proteína resulta en un valor calórico mayor que los carbohidratos. Aún más, *P. vannamei* es capaz de digerir proteínas puras mucho más eficientemente que el almidón (Akiyama, et al. 1989). Por consiguiente, la DAE de las dietas conteniendo mayores niveles de proteína y menores niveles de carbohidratos fue mayor que las dietas que contenían menores niveles de proteína y mayores niveles de carbohidratos. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre la DAE debido al nivel de proteína, siendo la diferencia entre estos valores menor a 1%.

CONCLUSIONES

1. La digestibilidad aparente de la materia seca se vio afectada por el nivel dietario de la tierra de diatomeas lavada en ácido, lo que indica que ésta es pobremente o no del todo digerido.
2. La digestibilidad aparente de proteína y de energía no se vio afectada por los niveles dietarios de tierra de diatomeas lavada en ácido a medida que estos aumentaban.
3. La tierra de diatomeas lavada en ácido parece ser un relleno no nutritivo alternativo apropiado para ser utilizado en la investigación de los requerimientos de nutrientes tales como las tasas óptimas de proteína:energía para camarones peneidos.
4. Las digestibilidades aparentes de materia seca, proteína y energía no se vieron afectadas por el nivel dietario del aceite de menhaden.
5. La digestibilidad de proteína aparente no se vio afectada por los niveles dietarios de los carbohidratos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada parcialmente por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos CSRS Grant No.H-8158 de la Texas Agricultural Experiment Station, Texas A&M. University System. Los autores agradecen también la colaboración de Patty Beasley, Shrimp Mariculture, Texas Agricultural Experiment Station, Texas A&M. University System.

LITERATURA CITADA

- Akiyama, D.M., S.R. Coelho, A.L. Lawrence & E.H. Robinson . 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55:91-98.
- Ali, S.A. 1982. Effect of carbohydrate (starch) level in purified diets on the growth of *Penaeus indicus*. *Indian Journal of Fisheries* 29:201-208.
- Bordner, C.E., L.R.D'Abramo & D. Conklin. 1983. Assimilation of nutrients by cultured hybrid lobsters (*Homarus sp.*) fed experimental diets. *Journal of the World Mariculture Society* 14:11-24.
- Borrer, S.E. & A.L. Lawrence. 1989. Effect of lipid and cellulose on the digestibility in penaeid shrimp diets. *Journal World Mariculture Society* 20:18a

- Brown, P.B., C.D. Williams, E.H. Robinson, D.M. Akiyama y A.L. Lawrence. 1986. Evaluation of methods for determining in vivo digestion coefficients for adult red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of the World Aquaculture Society* 17:19-24
- Catacutan, M.R. 1991. Apparent digestibility of diets with various carbohydrates levels and the growth response of *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 95: 89-96
- Colvin, P.M. 1976. Nutritional studies on penaeid prawns: Protein requirements in compounded diets for juvenile *Penaeus indicus* (Milne Edwards). *Aquaculture* 7:315-326.
- Davis, D.A., A.L. Lawrence & D.M. Gatlin III. 1992a. Mineral requirements of *Penaeus vannamei*: A preliminary examination of the dietary essentiality for thirteen minerals. *Journal of World Aquaculture Society* 23:8-14
- Davis, D.A., A.L. Lawrence & D.M. Gatlin III. 1992b. Evaluation of the dietary iron requirement of *Penaeus vannamei*. *Journal of World Aquaculture Society* 23:15-22
- He, H., A.L. Lawrence & R. Liu. 1992. Evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A, D, E, and K for penaeid shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 103:177-185.
- Ma, T.S. & G. Zuazago. 1942. Micro-kjeldahl determination of nitrogen: A new indicator and improved rapid method. *Industrial and Engineering Chemistry* 14:280-282
- Maynard, L.A., J.K. Loosli, H.F. Hintz & R.G. Warner. 1979. *Animal nutrition*. McGraw-Hill Inc., New York, USA.
- McGinnis, A.J. & R. Kasting. 1964. Colorimetric analysis of chromic oxide to study food utilization by phytophagous insects. *Agricultural Food Chemistry* 12:259-262.
- SAS Institute Inc. 1988 *SAS/STAT User's Guide*, Release 6.03 Edition. Cary, North Carolina, USA.
- Smith, L.L., P.L. Lee, A.L. Lawrence & K. Strawn. 1985. Growth and digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: Effects of dietary protein level and protein source. *Aquaculture* 46:85-96.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1980. *Principles and procedures of statistics: a biometrics approach*. McGraw-Hill, New York, New York, U.S.A.
- Teshima, S. & A. Kanazawa. 1983. Digestibility of dietary lipids in the prawn. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49:963-966.