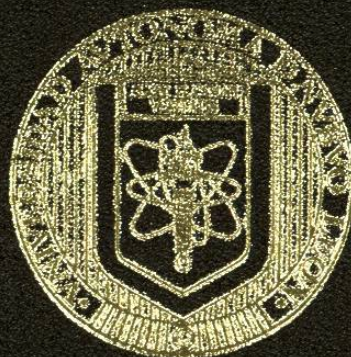


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ALGA  
*Macrocystis pyrifera* (L.) C. AGARDH, EN ALIMENTOS  
COMERCIALES PARA EL CAMARÓN BLANCO  
*Litopenaeus vannamei* BOONE.

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR  
AL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

CON ESPECIALIDAD EN RECURSOS ALIMENTICIOS  
Y PRODUCCIÓN ACUÍCOLA  
PRESENTA

LUIS OMAR PEÑA ORTEGA

MONTERREY, N. L.

JUNIO DE 2002



LEOPOLDO  
INDUSTRIAS  
DE KERPEN  
ALIMENTOS  
CAMARON  
CAMARON

TM

Z5320

FCB

2002

.P4

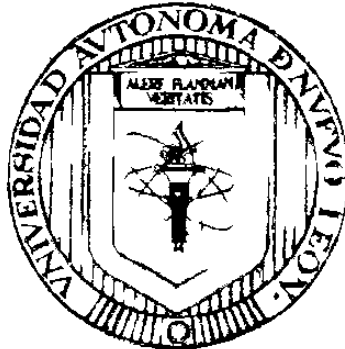


1020147940

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUB DIRECCION DE POSTGRADO



ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ALGA  
*Macrocystis pyrifera* (L. C. AGARDH) EN ALIMENTOS  
COMERCIALES PARA EL CAMARÓN BLANCO  
*Litopenaeus vannamei* BOONE

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR  
AL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

CON ESPECIALIDAD EN RECURSOS ALIMENTICIOS  
Y PRODUCCIÓN ACUÍCOLA  
PRESENTA

LUIS OMAR PENA ORTEGA

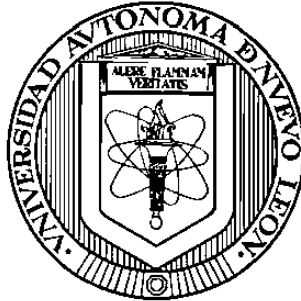
MONTERREY N. L.

JUNIO DE 2002

TH  
253 0  
FEB  
2002  
P4



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO**



**ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ALGA *Macrocystis pyrifera* (L.) C. AGARDH, EN ALIMENTOS COMERCIALES PARA EL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* BONNE.**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN RECURSOS ALIMENTICIOS Y PRODUCCIÓN ACUÍCOLA**

**PRESENTA**

**LUIS OMAR PEÑA ORTEGA**

**MONTERREY, N.L.**

**JUNIO 2002**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ALGA *Macrocystis pyrifera* (L.) C.  
AGARDH, EN ALIMENTOS COMERCIALES PARA EL CAMARÓN BLANCO  
*Litopenaeus vannamei* BONNE.

Luis Omar Peña Ortega

Tesis

COMISIÓN DE TESIS

DRA. LUCIA ELIZABETH CRUZ SUÁREZ  
Directora

Handwritten signature of Dra. Lucia Elizabeth Cruz Suárez, written over a horizontal line.

DR. DENIS RICQUE MARIE  
Secretario

Handwritten signature of Dr. Denis Ricque Marie, written over a horizontal line.

DR. ROBERTO MERCADO HERNÁNDEZ  
Vocal

Handwritten signature of Dr. Roberto Mercado Hernández, written over a horizontal line.

## INDICE

	Pag.
Resumen	1
1.- Introducción	2
2.- Antecedentes.	3
2.1.- Ingrediente experimental.	3
2.2.- Estudios anteriores en nutrición de camarón.	9
3.- Importancia	12
4.- Originalidad y justificación.	12
5.- Hipótesis.	12
6.- Objetivos.	13
6.1.- General	13
6.2.- Particulares.	13
7.- Material y métodos.	14
7.1.- Ingrediente experimental.	14
7.2.- Sala de bioensayos	14
7.3.-Bioensayo de crecimiento 1.	15
7.3.1.- Diseño experimental.	15
7.3.2.- Proceso y características de las dietas experimentales fabricadas a nivel comercial.	17
7.3.3.- Análisis de las dietas	19
7.3.4.- Organismos experimentales.	20
7.3.5.- Condiciones de experimentación	21
7.3.6.- Parámetros zootécnicos	22
7.3.7.- Análisis estadístico	22
7.4.- Bioensayo de crecimiento 2.	23
7.4.1.- Diseño experimental.	23
7.4.2.- Dietas experimentales.	24
7.4.3.- Organismos experimentales	26
7.4.4.- Condiciones de experimentación	26



	Pag.
7.4.5.- Parámetros zootécnicos	27
7.4.6.- Análisis estadístico	27
8.- Resultados	27
8.1.- Ingrediente experimental.	27
8.2.- Dietas experimentales -bioensayo 1	28
8.3.- Dietas experimentales – bioensayo 2	29
8.4.- Bioensayo de crecimiento 1	30
8.4.1.- Resultados generales	30
8.4.2.- Ganancia en peso	33
8.4.3.- Consumo individual	35
8.4.4.- IGR	38
8.5.- Bioensayo de crecimiento 2.	40
8.5.1.- Resultados generales	40
8.5.2.- Crecimiento	41
8.5.3.- Consumo	43
8.5.4.- Tasa de conversión alimenticia.	44
9.- Discusiones.	45
10.- Conclusiones	49
11.- Referencias	50

## INDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1.- Composición	5
Tabla 2.- Composición química del alga <i>M. pyrifera</i> determinada por la empresa procesadora y el programa Maricultura (Colectada en Mayo del 2000).	5
Tabla 3.- Relación de los diferentes estudios realizados en el Programa maricultura en el uso de la harina de Kelp en alimentos para camarón – Diseño experimental	10
Tabla 4.- Relación de los diferentes estudios realizados en el Programa maricultura en el uso de la harina de Kelp en alimentos para camarón – Resultados.	11
Tabla 5.- Diseño experimental propuesto para el Bioensayo 1	16
Tabla 6.- Formula de la dieta Control.	16
Tabla 7.- Bitácora de proceso de las dietas comerciales evaluadas.	18
Tabla 8.- Resultados de los análisis realizados a las dietas en las tres corridas llevadas a cabo en la planta comercial (base seca).	19
Tabla 9.- Diseño experimental de un factor para el bioensayo 2.	24
Tabla 10.- Formulas empleadas en la elaboración de las dietas experimentales del bioensayo 2.	25
Tabla 11.- Análisis proximal de la harina de Kelp (% base húmeda).	27
Tabla 12.- Perdida de materia seca para las dietas comerciales evaluadas en una ANOVA (% base seca).	28
Tabla 13.- Análisis proximal para las dietas elaboradas en condiciones de laboratorio para el experimento 2 (% base húmeda).	29
Tabla 14.- Resultados zootécnicos para el bioensayo 1.	31
Tabla 15.- Resultados zootécnicos para el bioensayo 2.	41

## INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Gráfica 1.- Ganancia en peso a los 28 días en un análisis de tres factores.	34
Gráfica 2.- Crecimiento (GP) a los 28 días en un análisis de varianza de una vía.	35
Gráfica 3.- Consumo individual a los 14 días.	36
Gráfica 4.- Consumo individual de alimento a los 28 días.	37
Gráfica 5.- Consumo de alimento a los 14 días en un ANOVA.	37
Gráfica 6.- Consumo a los 28 días en un ANOVA.	38
Gráfica 7.- IGR a los 28 días en un análisis factorial.	39
Gráfica 8.- IGR a los 28 días en un anova.	40
Gráfica 9.- Resultados para la GP 28 días.	42
Gráfica 10.- IGR a los 28 días para el bioensayo 2.	43
Gráfica 11.- Consumo individual a los 14 días en un análisis de una vía.	44
Gráfica 12.- Tasa de conversión alimenticia a los 28 días para el bioensayo 2.	45

## RESUMEN.

La harina de Kelp como recurso ficológico potencial en México ha comenzado a usarse en alimentos para camarón a nivel comercial. Como parte de una serie de investigaciones en donde se han venido dilucidando los efectos de la inclusión de este ingrediente, el presente trabajo busca la determinación de posibles interacciones entre la harina de Kelp y la relación de proteína animal/vegetal en alimentos comerciales para camarón, su posible efecto promotor de crecimiento y la respuesta de este en presencia de alginato de sodio purificado, el principal carbohidrato ficocoloide del alga, sobre el crecimiento. Dos proporciones de proteína de origen animal y vegetal, dos protocolos de alimentación y una inclusión al 3% de harina de Kelp fueron evaluadas en 4 dietas en el primer experimento. La inclusión de gluten de trigo y alginato de sodio como aglutinantes y una inclusión de harina de Kelp (4%) fueron evaluadas en dietas experimentales sobre crecimiento en el segundo experimento. Pruebas adicionales de estabilidad en el agua fueron realizadas a las dietas. El Kelp presentó diferencias significativas en cuanto a consumo aumentándolo hasta un 33% en relación con la dieta menos consumida. El posible efecto promotor de crecimiento se descarta, ya que no se obtuvieron diferencias significativas importantes entre las dietas racionadas y ad libitum. La relación proteína vegetal / animal no afectó de forma significativa el desempeño de las dietas. Se concluye que el principal efecto del Kelp es sobre consumo a través de la absorción de agua, potenciada por el alginato de sodio tanto purificado como el incluido en el alga, el cual otorga una consistencia suave que promueve la alimentación por parte del camarón y por tanto un mejor rendimiento en el crecimiento.



## 1.- INTRODUCCIÓN.

En la búsqueda de alternativas que promuevan una mayor eficiencia a la producción de organismos acuáticos en cultivo, científicos y productores han evaluado diferentes fuentes de alimentos o sustancias, los cuales por su costo y/o efecto de la inclusión en dietas comerciales son objeto de interés. El alga Kelp (*Macrocystis pyrifera*), cosechada en las costas de Baja California, y la cual se emplea ya en la producción de alimentos para camarón, es uno de estos ingredientes. El conocimiento generado sobre el uso de esta especie en alimentación animal se centra en otras especies, principalmente moluscos y equinodermos. Mayor es la contribución al conocimiento acerca de los diferentes carbohidratos hidrocoloides empleados en diversas industrias como aglutinantes y espesantes. Parte de estas contribuciones destacan principios inmunomoduladores en ratas y en humanos. Estos principios entre otros son los que han alentado su uso experimental y en algunos casos comercial en alimentación en acuicultura. En su uso práctico en la nutrición de camarón se han observado tendencias positivas en cuanto a consumo, crecimiento y supervivencias cuando se incluye en los alimentos comerciales para camarón. En base a estas observaciones se han planteado y realizado diversos experimentos en condiciones de laboratorio donde se han evaluado harinas de Kelp de diferentes lugares, en diferentes proporciones de inclusión así como en diversas condiciones de contenido de proteína. De estos experimentos se han desprendido resultados que indican que su inclusión puede ser positiva en algunas de las condiciones evaluadas, sin embargo han surgido dudas en cuanto a la interacción de este ingrediente con algunos componentes de las dietas y con la presencia de un posible efecto promotor del crecimiento en el alga. Como parte de esta serie de experimentos los cuales son detallados en los antecedentes, el presente trabajo surge del interés por encontrar estas interacciones en forma particular con diferentes relaciones de proteína animal o vegetal dominante, con un régimen de alimentación a saciedad y racionado y con la presencia de alginato de sodio purificado en adición al encontrado en el alga del cual se busca definir su aportación a los resultados obtenidos con el uso de la harina de Kelp.

## 2.- ANTECEDENTES.

### 2.1.- Ingrediente experimental.

Las algas marinas constituyen un recurso renovable importante para diversos países, en donde se han explotado con diferentes fines: como fertilizantes y abonos, en alimentación humana y animal, en la industria farmacéutica, etc. Las diversas aplicaciones varían de acuerdo a la especie y a la composición de las mismas, así como a la disponibilidad y factibilidad en la explotación.

La extensa zona de litoral de México representa aproximadamente 10,000 Km. de longitud; esto implica una cantidad considerable de opciones en cuanto a la explotación de recursos, dentro de los cuales se encuentran los relacionados a las pesquerías. Estas han involucrado también la producción de algas marinas, principalmente especies macroscópicas, las cuales son más susceptibles de explotación por sus volúmenes de producción (tamaño de fronda); la clase Phaeophyceae entra en esta clasificación y de esta el caso del orden Laminariales constituyendo las principales productoras de materia orgánica, dando de 1 a 3 kg C-Org/m<sup>2</sup> o mas (Vozzhinskaya and Kuzin, 1994). Dentro de las principales especies explotables se encuentran: *Macrocystis pyrifera*, *Gelidium robustum*, *Gigartina canaliculata*, *Euchema uncinatum* y *Porphyra perforata*, las primeras tres de explotación regular y las dos últimas de forma incipiente. Todas estas pertenecen a ambientes de aguas frías, sobre el pacífico occidental. Otras especies con relativa importancia en cuanto a su composición química o abundancia son *Egregia laevigata*, *Pelagophycus porra*, *Laminaria farlowii*, *Eisenia arborea*, *Pelvetia fastigiata*, *Hesperophycus harveyanus*, *Halidrys dioica*, *Cystoseira osmundacea*, *Sargassum ssp.*, *Agardhiella tenera*, *Gracilaria verrucosa*, *Hypnea musciformis* y *Gigartina cervicornis* (Guzmán del Proo et al., 1986).

*Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh es conocida como “Sargazo gigante” o “Kelp Gigante”; este último término es empleado indistintamente para nombrar de forma general a las algas cafés (Vásquez, 1999) o a las Laminariales en forma particular (Vozzhinskaya and Kuzin, 1994). Llega a tener una altura de 50m o más, y esta conformada por un conjunto de estipes que se fijan al sustrato preferentemente rocoso, por medio de un rizoide. De la estipe surgen los canuloides (ramas coriáceas), que cuentan con estructuras flotadoras llamadas neumatocistos, de aquí se despliegan las láminas. En conjunto estas estructuras forman una fronda. Este género se distribuye principalmente en las costas del pacífico, en el Norte y Sur de América, además de Australia y Sur de África. En América del sur se distribuye en Perú, Patagonia y Tierra del fuego al Sur y en América del Norte, desde Santa Barbara, California a Punta San Hipólito B. C., México. La distribución de este recurso en México se presenta en las costas de Baja California. Se localiza en las zonas de intermareas (someras) alrededor de 40m de profundidad, siendo afectada esta distribución por diversos factores tanto bióticos como abióticos (Graham M., 1997). Las frondas forman mantos densos sobre grandes extensiones. Su distribución se ve afectada por la temperatura del agua, el sustrato, la exposición al oleaje e intensidad de luz en el fondo. Cuenta con una tasa de crecimiento de hasta 30cm por día en promedio, 14.7cm/día en la primavera y 23.3 cm/día en el invierno (Hernández-Carmona, 1996). Su ciclo de vida consiste en una alternancia de generaciones entre un esporofito asexual y un gametofito microscópico sexual. Cuentan con un periodo de vida en promedio de 6 meses. Su biomasa se ha reportado de 3 a 22 kg/m<sup>2</sup>.

La composición química de esta alga se ha encontrado que varía de acuerdo a la época del año, la localidad de colecta, la sección del alga etc. y presenta mayor contenido energético en invierno (Castro-González *et al.*, 1994) (Tabla 1).

**Tabla 1.- Composición química del alga *M. pyrifera*, en diferentes épocas del año\*.**

Fracción	Verano	Invierno
Proteína bruta <sup>1</sup> (N*6.25)	8.76	10.7
E. Etéreo	0.56	0.75
Cenizas	36.67	33.53
Fibra bruta	7.74	4.45
Carbohidratos	46.27	50.6
Energía Bruta <sup>2</sup>	2.2	2.03

1. N\*6.25; 2. kcal/g; \*Castro-González et al, 1994

Con respecto a los valores encontrados en análisis realizados tanto por la empresa procesadora como por el programa Maricultura estos se muestran en la tabla 2 (Cruz-Suárez et al., 2000a).

**Tabla 2.- Composición química del alga *M. pyrifera* determinada por la empresa procesadora y el programa Maricultura (Colectada en Mayo del 2000).**

Composición química (% base húmeda)	Kelp mexicano	
Humedad	12 <sup>1</sup>	10.25 <sup>2</sup>
Proteína	9.41	12.25
Lípidos	0.85	0.56
Ceniza	31	39.82
Fibra	7.15	7.78
ELN	39.69	29.34
Alginatos	25	
<b>Aminoácidos (g/100 g de proteína)</b>		
Arginina	3.82	
Alanina	5.3	
Cisteína	3.15	
Fenilalanina	3.78	
Isoleucina	3.2	
Lisina	5.05	
Leucina	5.76	
Metionina	2.05	
Tirosina	2.68	
Treonina	4.78	
Valina	4.45	
Histidina	1.3	
Glicina	4.83	
Serina	4.94	
Triptofano	-	

<sup>1</sup>Análisis Bromatológico realizado por la compañía Productos el Pacífico.



<sup>2</sup>Análisis Bromatológico realizado por el Programa Maricultura.

El perfil de aminoácidos destaca por contener elementos esenciales para diversas especies, siendo los principales el ac. glutámico, alanina, ac. aspártico, leucina y lisina, considerándose como una fuente de proteína aceptable por este aspecto. Los carbohidratos se encuentran en cantidad importante en esta alga en forma de carbohidratos complejos o ficocoloides (40%); estos se encuentran en forma de gomas: alginatos (26%), fucoidinas y manitol (2-15%). Además su alto contenido de cenizas y el análisis de su composición mineral permiten concluir que es una fuente potencial de minerales como cloro, potasio y magnesio. Por otro lado la digestibilidad de la materia seca en rumiantes se considera buena (83.2% en promedio) (Castro-González *et al.*, 1991).

En forma general las algas del grupo de la Feofitas se caracterizan por su alto contenido de laminarán, manitol, yodo y fucoidina; teniendo valores promedio para yodo de 0.115 %BS, el cual al ingerirse incrementa la hormona estimuladora de la tiroides en humanos (Key *et al.*, 1992). Por su parte la fucoidina, un polisacárido sulfatado, interviene en la capacidad de retención de agua en el alga, teniendo implicaciones en la cantidad de minerales retenidos por el alga (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991) y en la textura del alimento donde esta incluido; además esta relacionada a actividades anticoagulantes (Chevolot *et al.*, 1999), antitrombótica (Millet *et al.*, 1999 y Mauray *et al.*, 1998), antitumoral y antiproliferativa en casos de cáncer (Riou *et al.*, 1996); por otro lado la fucoxantina que corresponde al pigmento encontrado en estas algas tiene propiedades antioxidantes importantes (Yan *et al.*, 1999), función compartida con otros polisacáridos solubles en agua como diversas sales de alginato y manuronato (Xue *et al.*, 1998). Los polisacáridos extraídos de algas pueden afectar la absorción intestinal de glucosa e insulina en cerdos (Vaugelade *et al.*, 2000). Se ha encontrado que polisacáridos extraídos de algas cafés tienen actividades inmunomodulatorias asociadas a los niveles de células B en ratones (Okai *et al.*, 1998 y Okai *et al.*, 1996). El laminarán sulfatado por su parte se ha encontrado que tiene propiedades inmunomodulatorias en los macrófagos in vitro del Salmón *Salmo salar* (Dalmo and Seljelid, 1995). Por ultimo se han identificado compuestos indol en

*Macrocystis sp.* como la triptamina (Serotonina), pudiendo ser una fuente natural para este importante mediador neurohormonal (Accorinti, 1992).

El principal uso de las algas cafés y en particular de *Macrocystis pyrifera* parte de la utilización del mucilago localizado en la pared celular y en los espacios intercelulares, el cual tratado con carbonato de sodio y posteriormente con ácido mineral, produce el ácido algínico; este es un compuesto poliurónico muy estable a la hidrólisis, que por si mismo es insoluble en el agua, pero tiene capacidad de absorberla y sus sales son solubles en agua (Ortega, 1983). Los alginatos son copolímeros de ácido beta-D-manosilurónico y ácido alfa-L-gulosilurónico, unidos por enlaces 1-4 (Rehm and Valla, 1997); de la proporción de estos se deriva la relación M:G que determina el grado de viscosidad del alginato. El mayor contenido de ac. algínico entre la Feofitas lo presenta *Macrocystis pyrifera* (Villarreal-Rivera, 1994); el peso molecular de los alginatos de *M. pyrifera* es de 146,000-264,000 y una relación M:G de 0.9-1.0 (Fujiki *et al.*, 1994). Estos alginatos se emplean en su mayor parte cuando se busca incluirlos en procesos en los que se requiere un agente suspensor, gelificante, emulsificante, formador de películas o que de cuerpo a ciertas sustancias (Guzmán del Proo *et al.*, 1986). Otras funciones se han estudiado, como la estimulación del metabolismo de los lípidos en ratas por alginatos de bajo peso molecular (Lee-Dong *et al.*, 1998), se han analizado también algas como aditivos en alimentos para peces, encontrándose que aceleran la absorción de ácido ascórbico (sinergismo) y por lo tanto las demás implicaciones metabólicas relacionadas con esta vitamina, como el metabolismo de lípidos (Nakagawa, 1997). Por otro lado los alginatos proveen un efecto protector en contra de infecciones bacterianas en Carpa común, sin embargo este efecto esta en función de la relación M:G (Fujiki *et al.*, 1994), entre otros. En acuicultura se han empleado como aglutinante junto con el Carragenano (otro polisacárido) en alimentos microparticulados para la nutrición en larvicultura marina (Pedroza-Islas *et al.*, 2000).

Por otro lado se han encontrado otros usos en la actualidad en base a los análisis de los compuestos presentes en esta alga, como complemento alimenticio para rumiantes con digestibilidades de 85% (Gojon-Baez *et al.*, 1998, Castro-González *et al.*, 1994, Castro-

González *et al.*, 1991); se ha analizado también en alimentos para pollos, sin embargo sin diferencias significativas (Carrillo-Domínguez *et al.*, 1990); en alimentos extrudidos para el erizo de mar *Loxechinus albus* en Chile (Lawrence *et al.*, 1997); en alimentos para el Abulón *Haliotis spp.* (Stuart and Brown, 1994; Marsden and Williams, 1996; González-Aviles and Shepherd, 1996; Viana *et al.*, 1996) y como attractante en la misma especie aunque en forma fresca (Viana *et al.*, 1994).

Su aprovechamiento en México comenzó en el año 1956 y desde 1968 un solo barco ha realizado las actividades de cosecha. Propiedad de la Compañía Productos del Pacífico, S. A. de C. V., El Sargacero como se le conoce, cuenta con una capacidad de 400 toneladas, mide 135 pies de eslora por 50 pies de manga. Su diseño fue específico para la cosecha de *Macrocystis pyrifera*. Consiste en una plataforma rectangular de dos pisos, en el fondo se encuentra el cuarto de maquinas y depósitos de combustible y agua, en el segundo piso se encuentra el almacén con capacidad de 400 ton. En la proa se encuentra una caseta donde se controla el funcionamiento del sistema de corte y elevadores, los cuales consisten en una rampa de 9.2 m de ancho, una banda sin fin y un sistema de cuchillas dispuestas en forma de sierra, colocadas en el borde inferior y a los lados de la rampa, las cuales cortan y levantan el alga y lo depositan en el contenedor de almacenamiento. La labor de cosecha consiste básicamente en navegar sobre un manto y bajar el elevador con las cuchillas a una profundidad de 1.2 m e iniciar las operaciones de corte (Aguilar-Rosas *et al.*, 1997). El total de la producción de este barco se exporta directamente después de la cosecha a la empresa Kelco, ubicada en San Diego California, donde se procesa para la obtención de ac algínico y sus derivados. México importa la mayor parte del ac. Algínico que consume principalmente de Estados Unidos, Gran Bretaña, Francia, Bélgica, España, Luxemburgo, Alemania, Canadá, Japón y Noruega, los cuales son los principales países productores de alginatos (Hernández, 1985 en Castro-González *et al.*, 1991).

La extracción de este compuesto (alginato) ha generado ingresos anuales por cerca de US\$250,000,000 en Europa y América. El uso de estos alginatos, se reparte en las siguientes áreas: textiles 42%, alimentos 34%, papel 9.4%, farmacéutica 5.3% y otras 3.2%.

Sin embargo la expansión de nuevos mercados como su utilización en alimentos para organismos en cultivo, requerirá de un aumento en la producción de alga fresca, especialmente para organismos como el abulón *Haliotis spp.*, el cual requerirá de 600 TM/año, y el erizo *Loxechinus albus*, de 1000 TM/año; principalmente en el Norte de Chile (Vásquez, 1999). La producción en forma general de las algas pertenecientes al orden Laminariales, que constituyen la mayor cosecha marina en cuestión de rendimiento anual, es de 4 millones de toneladas, principalmente por maricultura en Asia o proveniente de poblaciones naturales en Europa, Norte y Sur América (Kloareg *et al.*, 1999).

## **2.2.- Estudios anteriores en nutrición de camarón.**

Como parte de una serie de experimentos realizados dentro del Programa Maricultura el presente proyecto surge del interés generado en los resultados de estas pruebas, las cuales se mencionan en las Tablas 3 y 4, según Cruz-Suárez *et al.* (2000a).



**Tabla 3.- Relación de los diferentes estudios realizados en el Programa maricultura en el uso de la harina de Kelp en alimentos para camarón – Diseño experimental**

Estudios	Objetivos	Condiciones																																		
I y II. Inclusión de dos niveles de Kelp sobre a) propiedades químicas y funcionales del alimento y b) Algunos parámetros zootécnicos en camarón blanco.	Evaluar el efecto atrayente de la harina de Kelp.	35% Proteína; rel a/v: 43/57; 8% lípidos; 0, 4 y 8 % de Kelp Chileno, gluten de trigo como aglutinante; efecto aglutinante sin contemplar. 27.6°C. Peso inicial 0.643gr.																																		
	Demostrar las capacidades aglutinantes, atrayente y promotora de una mejor utilización de los nutrientes (DAPD) en alimentos experimentales para camarón.	30% Proteína; rel a/v: 60/40; 10% lípidos; 3% de Alginato de Sodio y 1% de Hexametáfosfato en lugar de gluten, 2 y 4% Kelp mexicano en sustitución de alginato de sodio, hexametáfosfato y soya; 29.4°C. Peso inicial 0.458gr.																																		
III. Efecto de la relación proteína animal/vegetal, del nivel de proteína y de la inclusión de 3.2% de Kelp mexicano sobre propiedades químicas y funcionales del alimentos comerciales y algunos parámetros zootécnicos en camarón blanco.	Definir la capacidad atrayente y aglutinante del Kelp en relación a la proporción de proteína animal/vegetal.	Dos dietas con 25 y una con 40% de proteína; 60 40, 41/59, 51/49 respectivamente. En 25% se agrega 3.2% de Kelp contra un aglutinante sintético (1%) en dieta con 40% de proteína; 7% de lípidos; 28.1°C. Peso inicial 0.530gr.																																		
IV. Capacidad aglutinante de la harina de Kelp mexicana en alimentos peletizados comerciales.	Comparar los efectos aglutinantes y de absorción de agua de dos niveles de inclusión de Kelp mexicano, con el aglutinante sintético tipo urea formaldehído, en alimentos peletizados comerciales con diferentes niveles de proteína y relación proteína animal/vegetal.	13 alimentos en tres series de fabricación (lotes de 500Kg).																																		
		<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2"></th> <th colspan="4">Nivel de proteína (rel. Prot. Animal/vegetal)</th> </tr> <tr> <th>Kelp</th> <th>Ag Sintético</th> <th>30% (41/59)</th> <th>30% (60/40)</th> <th>35% (41/59)</th> <th>40% (51/49)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>0.8</td> <td>D1</td> <td>D2</td> <td>D3</td> <td>D4</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>0</td> <td>D5</td> <td>D6</td> <td>D7</td> <td>D8</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>0</td> <td>D9</td> <td>D10</td> <td>D11</td> <td>D12</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>0.5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>D13</td> </tr> </tbody> </table> <p>Grupo donde se seleccionaron las dietas evaluadas en este trabajo.</p>			Nivel de proteína (rel. Prot. Animal/vegetal)				Kelp	Ag Sintético	30% (41/59)	30% (60/40)	35% (41/59)	40% (51/49)	0	0.8	D1	D2	D3	D4	3	0	D5	D6	D7	D8	5	0	D9	D10	D11	D12	3	0.5		
		Nivel de proteína (rel. Prot. Animal/vegetal)																																		
Kelp	Ag Sintético	30% (41/59)	30% (60/40)	35% (41/59)	40% (51/49)																															
0	0.8	D1	D2	D3	D4																															
3	0	D5	D6	D7	D8																															
5	0	D9	D10	D11	D12																															
3	0.5				D13																															
V. Evaluar el efecto del Kelp en granja	Confirmar el efecto del crecimiento y la mejora en la tasa de conversión alimenticia	Este experimento se llevo a cabo bajo las condiciones granja Las Lomitas Sinaloa propiedad del Ing. Enrique Diaz.																																		

**Tabla 4.- Relación de los diferentes estudios realizados en el Programa maricultura en el uso de la harina de Kelp en alimentos para camarón – Resultados.**

Estudio	Resultados	Conclusiones
I y II	<p>La PMS no se afecto con 4% de Kelp pero si con 8% al aumentar (12.3%).                      La absorción de agua aumento en función del contenido de alginatos en las dietas.                      El consumo se ve afectado por la inclusión del Kelp. (4% aumenta en un 157%); Ganancia en peso aumenta 68% con Kelp; TCA 2 contra 1.4 del control.                      La DAPD sin diferencias; la DAMSD aumenta 6.8% con 4% de Kelp.                      El consumo de proteína esta en relación al consumo.</p>	<p>El Kelp duplica el consumo, es atrayente y promueve el consumo, sin afectar la digestibilidad aunque incrementa la tasa de conversión alimenticia</p>
III	<p>La PMS fue menor con Kelp y 25% de prot. con respecto al 40% de prot.                      No hay efectos significativos con la rel. Animal/vegetal para la PMS (Solo tendencia)                      El Kelp aumenta el consumo cuando la prot. Animal domina en 25% de prto (36% mayor).Igual para la GP (29.4%). NO hay diferencias entre 25 y 40% de prot. excepto con TCA que aumenta.</p>	<p>El efecto del Kelp se refuerza con la proporción de prot. animal marina.                      Dietas con 25% prot. y Kelp igualan o mejoran la GP con respecto a aquellas con 40% de prot.                      La harina de Kelp presenta efectos atrayentes y aglutinantes</p>
IV	<p>La PMS aumenta cuando se incluye Kelp cuando el contenido proteico aumenta.                      PMS menor con 30% prot animal dominante. Interacción significativa con inclusión de Kelp, nivel de prot. y rel. Prot. animal/vegetal.                      PMS fue afectada por las series de fabricación sin ser el tamaño de partícula la causante.                      La absorción de agua se duplica con 3% de Kelp (117%).                      Mayor absorción cuando la prot. es mayor especialmente vegetal dominante.                      Correlación positiva entre el contenido de alginato y la absorción de agua y PMS.</p>	<p>La capacidad aglutinante y gelificante del Kelp es afectada significativamente por la composición de la formula, el nivel de proteína, el tamaño de partícula y las condiciones de proceso.</p>
V	<p>El crecimiento se duplico con los alimentos suplementados con kelp, pero con una fuerte tendencia a incrementar a tasa de conversión.</p>	<p>Debido a un mayor consumo del alimento con Kelp, la TCA se dispara si no hay una alimentación controlada.</p>

En base a lo obtenido en los estudios I, II y III se plantearon las siguientes preguntas: 1. ¿El efecto del kelp se ve afectado por la relación de proteína animal/vegetal? 2. ¿El kelp mantendrá su efecto al ser racionado, derivado de algún promotor de crecimiento incluido en el alga? 3. ¿El efecto del kelp se verá afectado por la adición de alginato de sodio purificado y/o este será el principal componente del alga en proveer las características atribuidas al kelp? El estudio IV fue diseñado para responder esas preguntas en los aspectos ligados en los parámetros de proceso y características fisicoquímicas de alimentos producidos a nivel comercial (Tablas 3, 4, 7 y 8).

De acuerdo a las observaciones y conclusiones arrojadas por estos trabajos, se plantearon los diferentes objetivos del presente trabajo, seleccionando algunas dietas de las que fueron producidas en el estudio IV para evaluarlas en pruebas de alimentación de camarón en medio controlado, y preparando nuevas dietas como control interno (experimento 1) o para un nuevo diseño experimental (experimento 2).

### **3.- IMPORTANCIA**

El uso adecuado en alimentos comerciales de la harina de Kelp en relación a los componentes de la fórmula y la forma de alimentación permitirá obtener mayores beneficios de este recurso en el área de nutrición acuícola.

### **4.- ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN.**

En el desarrollo de la investigación en el uso de esta alga en alimentos para camarón, el presente trabajo como continuación de una serie de experimentos buscará complementar la información evaluando la forma de alimentación racionada o no y la interacción del alga con el origen de la proteína y la presencia de alginato purificado proporcionando condiciones inéditas en la evaluación de este ingrediente que darán una mejor base para su suplementación en dietas comerciales.

### **5.- HIPÓTESIS.**

El efecto de la inclusión del alga en alimentos comerciales para camarones se verá modificado por diferentes relaciones proteína animal-vegetal dominante, por el tipo de alimentación (racionado o *ad libitum*) y por la presencia de diferentes aglutinantes (gluten de trigo y alginato de sodio).

## **6.- OBJETIVOS.**

### **6.1.- GENERAL**

Analizar el efecto de la inclusión del Kelp Gigante *Macrocystis pyrifera* en forma de harina en alimentos comerciales para camarón con diferentes relaciones proteína animal-vegetal, en el desempeño del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* con una alimentación racionada o *ad libitum*, en la capacidad de absorción de agua y en la estabilidad de las dietas en el agua.

### **6.2.- PARTICULARES.**

- 1.- Confirmar si las dietas comerciales con Kelp a diferentes relaciones proteína animal-vegetal presentan un efecto diferente en el crecimiento de camarones *L. vannamei*.
- 2.- Determinar las posibles interacciones entre el efecto de la inclusión del alga y relaciones de proteína animal vegetal en dietas comerciales y con el alginato de sodio en dietas elaboradas en condiciones de laboratorio sobre los parámetros evaluados.
- 3.- Determinar si el efecto del Kelp en dietas comerciales se modifica por el tipo de alimentación (racionado y *ad libitum*), y por lo tanto la presencia o ausencia de un factor promotor del crecimiento en la harina de Kelp.
- 4.- Determinar el efecto del Kelp sobre la estabilidad del alimento y su capacidad de absorción de agua en presencia de diferentes aglutinantes en alimentos comerciales y experimentales.

## **7.- MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **7.1.- Ingrediente experimental.**

El alga *Macrocystis pyrifera* fue empleada en forma de harina. Esta se obtuvo de la producción por cosecha en la zona de Ensenada, Baja California Norte por la empresa Productos del Pacífico S. A. de C. V., la cual cuenta con la concesión para la explotación del recurso en el área comprendida entre Islas Coronado e Isla San Martín; este lote colectado en Mayo del 2000 fue empleado tanto en la elaboración de las dietas comerciales como en las dietas experimentales. Su composición proximal se determinó en el laboratorio del Programa Maricultura, U.A.N.L. al momento de su llegada, por medio de los análisis estándares establecidos por la A.O.A.C (1990).

### **7.2.- Sala de bioensayos**

Para el desarrollo de los bioensayos de crecimiento se empleó la sala de bioensayos que forma parte del programa Maricultura de la Facultad de Ciencias Biológicas. Consta de un sistema de recirculación de agua marina sintética, con 48 acuarios de 60 litros de fibra de vidrio de 60 x 30 x 35 cm, cada uno con doble fondo cubierto de tela de gasa de color negro; además de un sistema de recirculación para cada acuario ("Air lift"), 4 tanques de preengorda de 500 l cada uno con doble fondo y sistema de recirculación, dos tanques colectores que funcionan a manera de tanques de sedimentación de 1500 l que se encuentran en la parte inferior del sistema, un tanque de succión que se encuentra entre los dos colectores y recibe el agua de ellos. En la parte superior del sistema se encuentran dos tanques con un sistema de regulación de temperatura por intercambio y que suministran de agua al sistema por medio de gravedad, un filtro (Contactor) biológico, filtro de carbón activado, y espumadores; además se cuenta con dos filtros de cartucho de 50 micras. El sistema es monitoreado diariamente registrando la temperatura, salinidad y semanalmente los Nitratos y Nitritos y el pH.

Se evaluaron las dietas experimentales en dos bioensayos de crecimiento por 28 días, el esquema experimental fue de cuatro repeticiones por tratamiento, considerando a cada acuario como unidad experimental, con 10 camarones en cada uno, los cuales fueron repartidos de forma homogénea con respecto al peso. Los tratamientos (dietas) fueron asignados en un diseño de bloques al azar, dentro de la sala de bioensayos.

Al inicio de cada Bioensayo se realizó una prueba de análisis de varianza para evaluar la homogeneidad de los pesos de los organismos distribuidos en los acuarios, con un nivel de significancia del 95%.

### **7.3.-Bioensayo de crecimiento 1.**

#### **7.3.1.- Diseño experimental.**

De acuerdo a lo obtenido en la serie de experimentos anteriores (Tablas 3 y 4, Cruz *et al.*, 2000a), se consideró un análisis factorial utilizando dietas con 30% de proteína para tener un nivel de proteína limitante que permitiera ver los efectos de una alimentación racionada.

Considerando lo anterior, se evaluaron 3 factores: 1) nivel de inclusión del Kelp (0 y 3%), 2) relación proteína animal/vegetal (relación A/V = 41/59 y 60/40) y 3) protocolo de alimentación: *ad libitum* o racionado al consumo diario presentado con la dieta menos consumida en condiciones de saciedad. Estos dos protocolos de alimentación también fueron aplicados a una dieta control interna referida posteriormente. Este bioensayo de crecimiento se llevó a cabo del 22 de diciembre de 2000 al 19 de enero de 2001. Las dietas D1, D2, D5 y D6 mencionadas en la Tabla 5 son alimentos experimentales procesados a escala comercial por la compañía PIA S. A. (La Paz, B. C. S.) y evaluada por Cruz y colaboradores (2000a) en términos de estabilidad en agua y capacidad de absorción de agua (ver estudio IV de la Tabla 3).

**Tabla 5 Diseño experimental propuesto para el Bioensayo 1**

Alimentación	Ad libitum		Racionado	
Kelp(%) / Rel AV	41/59	60/40	41/59	60/40
0	D1a	D2a	D1r	D2r
3	D5a	D6a	D5r	D6r

Como control interno se sometió a evaluación junto con las dietas experimentales una dieta elaborada en el laboratorio del Programa Maricultura bajo las siguientes condiciones: formulada para contener 30% de proteína cruda, 10% de lípidos y una relación proteína animal vegetal 60 / 40. Una harina de pescado chilena fue utilizada como única fuente de proteína animal. El nivel de inclusión de la harina de trigo y la pasta de soya fueron ajustados para mantener una relación proteína animal / vegetal 60/40 y completar el 100% de la fórmula (Tabla 6). Se incluyó 3% de harina de Kelp. El proceso de fabricación de esta dieta fue el mismo que el mencionado para las dietas experimentales del bioensayo 2.

**Tabla 6.- Formula de la dieta Control.**

Ingrediente	Dieta control
Harina de pescado	26.66
Harina de trigo	47.50
Pasta de soya	12.36
Kelp	3.0
Alginato de sodio	2.25
Cloruro de calcio	1.0
Vitamina C	0.05
Vitaminas	0.25
Minerales	0.25
Antifúngico	0.05
ETQ	0.05
Colesterol	0.21
Metionina	0.089
Aceite de pescado	1.14
Lecitina de soya	5.14
Proteína Animal	18.00
Proteína vegetal	12.00
Relación Animal/Vegetal	60 / 40

### **7. 3. 2.- Proceso y características de las dietas experimentales fabricadas a nivel comercial.**

Cada una de las dietas fue procesada en tres corridas de 500kg, que corresponden a la capacidad de la mezcladora. En el caso de las dietas evaluadas en el presente trabajo se incluyó el alga (al 3%) en sustitución de un aglutinante comercial el Maxibond® (0.8%). Se usaron ingredientes de la compañía en cuanto a la harina de pescado, pasta de soya, y harina de trigo. El proceso de elaboración consistió en el pesado de los ingredientes, vaciado, molienda, mezclado en donde se agregaron los aditivos, pulverizado, condicionamiento, peletizado (90°C con kelp y 94°C con maxibond) con un dado de 2.6mm 3/32"; le siguió el enfriado, aceitado y ensacado. Se obtuvieron muestras a diferentes niveles de la línea de proceso, una después del pulverizado con el fin de determinar el tamaño de partícula de la mezcla, y otra en la salida de la peletizadora a la cual se le agregó el aceite de pescado de forma manual con entre 40 y 50 aplicaciones teniendo un gasto de aceite/kilogramo de producto engrasado de 55-60ml.

Las dietas elaboradas a nivel comercial para el experimento uno fueron monitoreadas durante el proceso de peletizado. A continuación se presentan los datos de humedad y temperatura en la mezcla y el alimento peletizado durante el proceso, calidad de molienda de la mezcla de ingredientes (PXM 60), cantidad de agua adicionada a la mezcla, y resultados de planta inmediatos en términos de densidad del pellet y generación de finos.



**Tabla 7. Bitácora de proceso de las dietas comerciales evaluadas.**

<i>Dieta</i>	<i>1</i>		<i>2</i>		<i>5</i>		<i>6</i>	
	<i>0%</i>		<i>0%</i>		<i>4%</i>		<i>4%</i>	
<i>Rel prot anim/veg</i>	<i>41/59</i>		<i>60/40</i>		<i>41/59</i>		<i>60/40</i>	
	<i>Temp</i>	<i>Hum</i>	<i>Temp</i>	<i>Hum</i>	<i>Temp</i>	<i>Hum</i>	<i>Temp</i>	<i>Hum</i>
<i>Mezcla s/agua</i>	32.6	10.6	40.8	10.5	39.4	10.7	34.3	10.2
<i>Mezcla c/agua</i>	29.2	14	38.9	12.8	44.6	12	43.2	12.4
<i>T5</i>	40	11.8	45	10.9	45.7	10.9	45.9	9.7
<i>Pelet</i>	90	12.6	97.1	11.1	85.3	12.7	90.3	11.8
<i>Cooler</i>	26.6	11.4	27.1	9.4	29.3	10.6	29.3	9.7
<i>Final</i>		9.5		7.7		8.7		8.2
<i>Temp Pelet</i>	94		93		91		91	
<i>PXM60</i>		92.6		91.75		90.87		91.04
<i>Inclusión de agua</i>		24		24		24		24
<i>% de Flotación</i>		0		0		0		0
<i>% de Finos</i>		0.03		0.03		0.03		0.03

T5= Texturizador, Pelet= Mezcla antes de la peletizadora, Temp Pelet= al salir de la peletizadora

PXM60= Porcentaje de mezcla que pasa por la malla #60 (250 micras)

Estos valores fueron registrados como parte de la bitácora de proceso de la planta comercial y muestran las condiciones de proceso de las dietas evaluadas.

En el estudio IV (Cruz *et al.*, 2000a) se procesaron 3 veces cada una de las dietas, de aquí se consideró un proceso de selección de entre las series con el fin de tener valores homogéneos de cantidad de proteína y lípidos, además del tamaño de partícula y la pérdida de materia seca. Los resultados de los análisis realizados a las tres corridas de las dietas del estudio IV se muestran en la Tabla 8. En base a estos datos se procedió a seleccionar a las siguientes corridas de cada dieta: Dieta 1, serie 1; Dieta 2, serie 2; Dieta 5, serie 1; Dieta 6, serie 1.

**Tabla 8. Resultados de los análisis realizados a las dietas en las tres corridas llevadas a cabo en la planta comercial (base seca).**

Serie	Dieta	Proteína	Lípidos	PMS	DGW	SGW	% 60	% Prot Lix
1	1	32.4	8.023	1.65	200	1.68	92.58	4.91
1	2	32.3	9.778	1.56	221	1.69	90.04	8.23
1	5	32.56	8.35	2.48	207	1.57	90.87	2.04
1	6	31.42	8.629	2.19	233	1.6	91.04	7.2
2	1	37.06	-	3.65	213	1.59	88.92	6.49
2	2	32.53	8.036	2.24	238	1.55	91.75	7.31
2	5	33.1	6.52	3.49	204	1.64	90.54	6.5
2	6	31.4	7.434	2.07	208	1.68	95.1	7.4
3	1	32.32	7.435	2.87	211	1.7	88.92	8.79
3	2	32.4	7.57	1.7	227	1.61	86.02	9.83
3	5	31.94	8	2.62	216	1.61	81.96	5.53
3	6	31.4	9.603	3.22	213	1.69	82.5	7.1651

Series seleccionadas por su homogeneidad en los valores de PMS, DGW, SGW, ver anexo .  
 %60= Porcentaje de la mezcla que pasa por la malla #60.

**Reducción a migaja:** Debido a que los alimentos PIASA contaban con un peletizado de más de 5 mm y no resultaban adecuados para la alimentación de organismos de menos de 100mg, se realizó un triturado de los mismos en un mortero para posteriormente ser tamizados entre dos mallas, una No. 18 con luz de malla de 1 mm y otra de No.10 con 2mm de luz de malla con el fin de obtener partículas de alimento entre 1 y 2 mm de diámetro. Este tratamiento fue aplicado a todas las dietas a evaluar (5 dietas). Las dietas ya trituradas fueron colocadas en frascos de 250 ml y almacenadas en refrigeración a lo largo de la duración del experimento.

### 7. 3. 3.- Análisis de las dietas

Las dietas fueron analizadas en laboratorio del programa Maricultura de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la U.A.N.L. por medio de los métodos descritos por la AOAC

(1990), para el análisis proximal y estabilidad en agua marina por una hora (Método Aquacop, 1978) y absorción de agua.

***Estabilidad del alimento en el agua:*** Se determinó la estabilidad del alimento por medio de la medición del porcentaje de pérdida de materia seca (PMS) del alimento después de estar una hora en agua marina a 35 ‰ y 28 °C, por medio del método Aquacop (1978).

***Absorción de agua:*** La absorción de agua se obtuvo después de sumergir por una hora en agua marina el alimento, calculando el diferencial de peso con respecto al peso seco inicial.

#### **7.3.4.- Organismos experimentales.**

Organismos *Litopenaeus vannamei* provenientes de la Granja Pecis, localizada en el municipio de Sisal, Yucatán, arribaron al Programa Maricultura el día 7 de Diciembre del 2000. Al día 16 de Diciembre del 2000 los organismos presentaron un peso promedio de  $93.1 \pm 38$ mg, de una muestra de 799 organismos de 3000 que fueron reportados en el envío. Bioensayo de crecimiento.

Se realizó un bioensayo de crecimiento empleando organismos con un peso promedio de 70 mg. Se distribuyeron 10 camarones por acuario, en acuarios de 60 l procurando una distribución homogénea de los pesos entre las unidades experimentales (Acuario). Las clases de tallas consideradas para el experimento se ubicaron en el rango de 50 a 120 mg: se eligieron para cada acuario 5 organismos en la clase de 50 a 70mg, 2 en la clase de 71 a 90mg, 2 en la clase de 91 a 110 y una en la clase de 110 a 120. La prueba de Anova de los pesos a la distribución indicó una homogeneidad satisfactoria ( $p=0.915$ ) (base de datos ver anexo). En forma general se manejaron cuatro repeticiones por tratamiento, 10 tratamientos (4 dietas comerciales y una experimental por 2 protocolos de alimentación) por cuatro replicados igual a 44 acuarios.

### 7.3.5.- Condiciones de experimentación

**Seguimiento diario:** Diariamente se registraba la supervivencia, la presencia de mudas y el consumo de cada acuario, con lo cual se realizaban los cálculos para la próxima alimentación. Se realizaron reemplazos de camarones en los acuarios que presentaran muertos dentro de los primeros cuatro días de experimentación. Para esto se buscaron organismos que presentaran el peso promedio inicial del acuario al cual estarían asignados. El lote de organismos para reemplazo fue mantenido en ayuno por este periodo.

**Alimentación:** Los organismos fueron alimentados una ocasión al día, debido a que la cantidad de alimento que comenzaron a consumir era tal que no permitía una división en dos raciones por día. La alimentación fue otorgada por la tarde, entre las 16 y 19 horas durante la experimentación ya que a esta hora del día se alcanzaban las mayores temperaturas en el sistema, favoreciendo un mayor aprovechamiento del alimento según observaciones hechas al inicio del experimento.

**Racionamiento del alimento:** Dentro del diseño experimental se consideraron dos protocolos de alimentación: *ad libitum* y racionado. El primero fue establecido por el consumo máximo soportado por cada grupo de organismos en un acuario de acuerdo al consumo del día anterior, comenzando con el 7% de la biomasa presente en cada acuario. El segundo se calculo del porcentaje de alimentación presentado en el tratamiento con menor consumo en condiciones de saciedad, después este porcentaje fue aplicado a la biomasa de los acuarios asignados para las dietas racionadas. Diariamente se calculaba el porcentaje de consumo de cada dieta y de esta forma se elegía al menor para calcular la alimentación del siguiente día para los organismos racionados.

### 7.3.6.- *Parámetros zootécnicos*

Se registro el crecimiento como el incremento en peso a los 14 y 28 días de alimentación pesando los camarones en una balanza de forma individual y considerando un promedio por unidad experimental (Acuario). Posteriormente con estos valores se realizaron los cálculos para su análisis estadístico.

Los parámetros evaluados y sus formulas se presentan a continuación: Ganancia en peso (GP), Biomasa final (BF), Tasa de conversión alimenticia (TCA), Supervivencia (S), Consumo de alimento (CA), la tasa de crecimiento instantánea (IGR) en promedio para cada unidad experimental (Acuario).

$GP = [(Peso\ final\ (g) - peso\ inicial\ (g))/Peso\ inicial\ (g)] \times 100$ ,  $TCA = Alimento\ consumido\ (g) / Peso\ ganado\ (g)$ ,  $TCA = \sum_{i=1}^{28} [(Cantidad\ de\ alimento\ proporcionado\ por\ acuario\ por\ día\ i) - (Alimento\ con\ consumir\ (g))]/número\ de\ camarones\ por\ día\ i$ ,  $S = (Número\ final\ de\ animales/número\ inicial\ de\ animales) \times 100$ ,  $IGR = ([100 \times \ln (Peso\ final/ Peso\ inicial)]/duración\ del\ bioensayo\ en\ días)$ .

### 7.3.7.- *Análisis estadístico*

De acuerdo al diseño experimental se procedió a evaluar los resultados en un análisis de varianza factorial (completamente al azar) de tres factores con una significancia de  $\alpha = 0.05$ . Los valores de supervivencia se transformaron de valores porcentuales a radianes por medio de la raíz cuadrada del arco seno del valor porcentual para poder someterlos a esta prueba paramétrica (ANOVAM). Posteriormente en los casos en que se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó un Análisis de varianza de una vía con el fin de realizar una comparación múltiple de medias de Tukey B, para definir por ultimo los grupos homogéneos entre los tratamientos, los cuales se indican en las tablas con letras iguales. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa estadístico

SPSS® v 10.0. Bajo la siguiente premisa se consideraron los resultados obtenidos del análisis factorial en el caso de una interacción: *Existe interacción entre dos factores si un cambio en uno de los factores produce un cambio en respuesta a un nivel del otro factor distinto del producido en otros niveles de este factor* (Daniel, 1989).

#### **7.4.- Bioensayo de crecimiento 2.**

##### **7.4.1.- Diseño Experimental.**

En el segundo bioensayo de crecimiento realizado del 7 de Marzo al 5 de Abril del 2001, se evaluaron dietas experimentales elaboradas en Laboratorio del programa Maricultura con el fin de definir el posible efecto de la adición de alginato de sodio purificado en presencia de Kelp (pregunta 3 de acuerdo a lo mostrado en el diseño experimental 1). En este experimento se manejo un nivel de inclusión de proteína del 30% con una relación proteína animal vegetal de 60/40 considerando que a este nivel de proteína y relación de origen se presentaron los mejores resultados en la serie de estudios anteriores (Tablas 3 y 4). En estas condiciones se elaboraron cuatro dietas, dos de ellas con una inclusión del 4% de Kelp, y otras dos sin el alga y utilizando para una de cada serie gluten de trigo como aglutinante y para las otras alginato de sodio purificado.

En este caso se busco observar el posible efecto de la interacción entre el alginato proporcionado por el Kelp y la adición de alginato purificado. Por otro lado con estos resultados se busco determinar también si el efecto de la inclusión del Kelp se debía en mayor parte al alginato de sodio propio del alga que a algún otro componente del alga. Para esto se diseño el siguiente experimento de un factor (Inclusión de Kelp) en dos condiciones: Con gluten de trigo o con alginato de sodio como aglutinantes por lo que se dividió en dos al momento del análisis para la determinación estadística de los efectos.

**Tabla 9. Diseño experimental de un factor para el bioensayo 2.**

		Análisis 1	Análisis 2
Aglutinante		Gluten de trigo	Alginato de sodio (3%)*
Kelp (%)	0%	K00	K03
	4%	K40	K43

\* incluido en la dieta con Kelp para completar el 3% con respecto al alginato proporcionado por el alga (0.84).

Diez organismos fueron distribuidos en acuarios de 10 l dentro de los tanques de pre-engorda, procurando una distribución homogénea de los pesos entre los acuarios. Al día 8 de experimentación, los organismos fueron trasladados a los acuarios de 60 l. Esta metodología fue empleada debido a que la disponibilidad de acuarios de 60 l estaba restringida a la fecha de inicio del experimento. Los organismos fueron sometidos a las dietas en un bioensayo de crecimiento por 28 días, en un esquema de cuatro repeticiones por tratamiento (Dieta), considerando a cada acuario como unidad experimental. Los tratamientos fueron asignados a las unidades experimentales siguiendo una distribución en bloques al azar dentro de la sala de bioensayos.

#### **7.4.2.- Dietas experimentales.**

Se elaboraron cuatro dietas a nivel experimental en el laboratorio del Programa Maricultura en cuenta los requerimientos nutricionales del camarón, de acuerdo a Akiyama *et al.* (1993). La proteína total dietaria fue ajustada al 30% con una relación proteína animal/vegetal 60/40 y un contenido de lípidos del 10%. La harina de Kelp fue incluida al 4% y 0%. El alginato de sodio se incluyó al 3 y al 2.16% para completar el 3% tomando en cuenta el aporte natural del alga cuando se incluyó el 4% de harina de Kelp. Las formulas de las dietas se presentan en la Tabla 10.

**Tabla 10. Formulas empleadas en la elaboración de las dietas experimentales del bioensayo 2.**

Aglutinante Ingrediente	Gluten de trigo		Alginato de sodio	
	Dieta K0A0	Dieta K4A0	Dieta K0A3	Dieta K4A3
Harina de pescado <sup>1</sup>	26.65	26.65	26.66	26.66
Harina de trigo	60.69	56.65	49.51	46.68
Pasta de soya	-	-	12.62	12.28
Harina de Kelp <sup>3</sup>	0.00	4.00	0.0	4.0
Gluten de Trigo	5.58	5.59	-	-
Alginato de sodio	-	-	3.0	2.16
Vitamina C	0.05	0.05	0.05	0.05
Vitaminas	0.25	0.25	0.25	0.25
Minerales	0.25	0.25	0.25	0.25
Antifúngico	0.05	0.05	0.05	0.05
ETQ	0.05	0.05	0.05	0.05
Colesterol	0.21	0.21	0.21	0.21
Metionina	0.02	0.02	0.091	0.088
Aceite de pescado <sup>2</sup>	1.06	1.09	1.13	1.14
Lecitina de soya	5.14	5.14	5.14	5.14
Relación Animal/Vegetal	60 / 40	60 / 40	60 / 40	60 / 40

<sup>1</sup>. Compañía Inual – Tepual, lote B9274

<sup>2</sup>. Compañía Inual – Tepual

<sup>3</sup>. Productos del Pacífico, lote 1

\* formula para 100 grs de alimento.

Los niveles para pasta de soya y harina de trigo fueron calculados para completar el 40 % de la proteína vegetal dietaria. Todos los ingredientes fueron molidos, tamizados (luz de malla 60, tamaño de partícula de 250 micras). Las dietas fueron elaboradas mezclando los micro ingredientes y posteriormente los macro ingredientes en una mezcladora Kitchen-Aid con capacidad para 4Kg ; posteriormente se integraron el aceite de pescado y la lecitina de soya. Por ultimo se agregaron de 200 a 300ml de agua hasta obtener una consistencia firme al tacto. Esta mezcla ya humedecida se proceso a través de una extrusión fría (Peletizado) en un molino para carne TOR-REY, equipado con un dado con orificios de 1.6mm de diámetro. El alimento elaborado se seco en un horno eléctrico a 100 °C por 8 minutos posteriormente a temperatura ambiente. Ya seco se almaceno en bolsas de plástico y se mantuvo en refrigeración a 4°C.



Las dietas fueron analizadas en laboratorio del programa Maricultura de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la U.A.N.L. por medio de los métodos descritos por la AOAC (1990), para el análisis proximal.

#### **7.4.3.- Organismos experimentales**

Para la evaluación de las dietas se emplearon organismos de *Litopenaeus vannamei*, provenientes de la granja Pecis, localizada en el Municipio de Sisal, Yucatán. El lote de organismos fue recibido el día 12 de Febrero de 2001 en las instalaciones del Programa Maricultura, donde fueron mantenidos hasta el inicio del experimento en tanques de 1500 l y alimentados con una dieta de 30% de proteína, sin Kelp. El peso de los organismos al inicio del experimento fue de  $467 \pm 72$  mg en promedio.

#### **7.4.4.- Condiciones de experimentación**

Diariamente se registraba la supervivencia, el consumo del alimento otorgado el día anterior por la tarde y el número de mudas en cada acuario. Posteriormente se eliminaban los restos de alimento y desechos por medio de sifón, en el caso de los acuarios de 10L además se realizaba un recambio del 80% aproximadamente de forma diaria al momento de la limpieza evitando al máximo el estrés en los organismos. La alimentación se llevo a cabo a saciedad (*ad libitum*) dos veces al día en una relación 50-50% aproximadamente (entre las 10:00-11:00 hrs y 17:00-19:00 hrs.) La dosificación de alimento se llevó a cabo por medio del calculo de un porcentaje en base a la biomasa total en el acuario al inicio y a los 14 días de experimentación, además de el número de organismos en ese día, asegurando un consumo total del alimento al ajustar el porcentaje de alimentación de acuerdo al consumo presentado sobre el alimento el día anterior.

#### 7.4.5.- Parámetros zootécnicos

Se determinaron los mismos parámetros empleados en el experimento uno.

#### 7.4.6.- Análisis estadístico

El análisis de estos resultados se realizó tomando las mismas consideraciones que en el bioensayo 1, con excepción de que en el diseño experimental se maneja un diseño factorial completamente al azar de dos factores: Inclusión de kelp (0 y 4%) e inclusión de un aglutinante sintético (alginato, 0 y 3%).

### 8.- RESULTADOS

#### 8.1.- Ingrediente experimental.

A continuación se presentan los resultados del análisis proximal realizado a la harina de kelp empleada en los experimentos por parte del Laboratorio del Programa Maricultura.

**Tabla 11. Análisis proximal de la harina de Kelp (% base húmeda).**

	Kelp experimental
Fecha de Colecta	May - 00
Humedad	10.3
Proteína	12.3
Lípidos	0.6
Ceniza	39.8
Fibra	7.8
ELN	29.3

## 8.2.-Dietas experimentales -Bioensayo 1

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los análisis bromatológicos, la pérdida de materia seca y absorción de agua de los alimentos procesados a nivel comercial. Los niveles de proteína se consideran homogéneos entre las dieta. Los lípidos muestran también valores muy similares, sin embargo destacan valores ligeramente mayores cuando es incluido el Kelp en las dietas. Las pérdidas de materia seca (PMS) fueron bajas en forma general con valores entre 1.8 y 2.9; sin embargo se encontraron diferencias estadísticas, siendo mayores las pérdidas cuando se incluye en los alimentos harina de Kelp y la proteína vegetal es dominante (probabilidad menor a 0.006). La absorción de agua disminuye significativamente cuando la proteína animal es dominante y aumenta entre un 58 y 65% cuando el Kelp es incluido en las dietas. Se aprecia una correlación positiva entre la capacidad de absorción de agua y la pérdida de materia seca de los alimentos evaluados es decir a mayor absorción de agua hay una mayor pérdida de materia seca (Tabla 12).

**Tabla 12. Pérdida de materia seca para las dietas comerciales evaluadas en una ANOVA (% base seca).**

Dieta	1	2	5	6	
<i>Kelp</i>	0%	0%	4%	4%	
<i>Rel A/V</i>	41/59	60/40	41/59	60/40	<i>Sig.</i>
<i>Humedad</i>	9.64	7.49	8.4	7.89	
<i>Proteína</i>	32.4	32.53	32.56	31.42	
<i>Lípidos</i>	8.02	8.04	8.35	8.63	
<i>Fibra</i>					
<i>Ceniza</i>					
<i>ELN</i>					
<i>PMS<sup>1</sup></i>	2.7 ±0.9b	1.8 ±0.3a	2.9 ±0.5b	2.5 ±0.6ab	0.006
<i>Absorción de agua<sup>1</sup></i>	70.6 ±3.9a	64.5 ±0.3a	116.5 ±4.1c	102.2 ±3.5b	0.000

1 Pérdida de materia seca en porcentaje (promedios calculados con todas las series de fabricación), letras diferentes indican diferencias significativas (Duncan  $\alpha = 0.05$ ).

### 8.3.- Dietas experimentales – Bioensayo 2

Los resultados de los análisis bromatológicos de las dietas experimentales se presentan a continuación:

**Tabla 13. Análisis proximal para las dietas elaboradas en condiciones de laboratorio para el experimento 2 (% base húmeda).**

% Kelp	K0A0	K4A0	K0A3	K4A3
	0%	4%	0%	4%
Aglutinante	Gluten de trigo		Alginato	
Humedad	9	9	9.5	9.7
Proteína	30.4	30.2	28.9	29.4
Lípidos	9.2	9.4	8.3	8.1
Ceniza	4.4	5.8	6.6	7.85
Fibra	0.7	0.8		
ELN	46.29	44.81		
PMS (%)	9.2	12.5	6.3	7.5
Abs de Agua (%)	101.1 ±1.4a	122.7 ±1.5b	195.5 ±4.7c	186.6 ±9.4c

Los valores para el análisis bromatológico son similares en las dietas por pares con excepción del contenido de ceniza que aumenta cuando se ha incluido Kelp en las dietas; por otro lado, al incluir alginato y hexametáfosfato aumenta aun más el contenido de ceniza en estas dietas en un 18.9%.

La pérdida de materia seca presento diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0.001$ ), siendo mayor para las dietas con gluten de trigo y menor cuando se incluye alginato. La inclusión de harina de kelp aumenta la pérdida de materia seca independientemente del aglutinante usado (gluten de trigo y alginato).

La absorción de agua aumenta un 21% aproximadamente al incluirse Kelp en las dietas con gluten de trigo como aglutinante ( $p < 0.001$ ). Cuando el alginato purificado se encuentra en la dieta la absorción de agua no presenta diferencias significativas al incluir el Kelp (mismo grupo homogéneo en la comparación múltiple de medias) pero aumenta en un 70%

promedio con respecto a las dietas con gluten de trigo (Tabla 13, gráfico 1). De acuerdo a esto la absorción de agua se ve favorecida principalmente y de forma dominante por la inclusión de alginato de sodio en las condiciones en que fueron elaboradas las dietas, y adicionalmente por el efecto de los componentes del Kelp siendo esto acorde a los antecedentes (Tablas 3 y 4).

#### **8.4.- Bioensayo de crecimiento 1**

##### **8.4.1.- Resultados generales**

Para el primer experimento de crecimiento donde se evaluaron dietas elaboradas en condiciones de planta comercial con dos niveles de inclusión de Kelp (0 y 3%), dos relaciones de proteína de origen animal y vegetal y dos protocolos de alimentación, los resultados del análisis factorial se muestran en la Tabla 14. Además se muestran los resultados obtenidos para la dieta control junto con las probabilidades estadísticas y una comparación múltiple de medias considerando a todas las dietas por igual (incluida la dieta control). En el análisis factorial la ganancia en peso, el IGR, la TCA y la supervivencia no presentaron efectos significativos a los 14 días. A los 28 días de experimentación la ganancia en peso, el consumo y el IGR fueron los únicos parámetros con diferencias estadísticas.

Durante el periodo de experimentación, la dieta 2 (60/40, 0% Kelp) fue la que presento el menor consumo y la que se considero para calcular la tasa de alimentación de las dietas racionadas

**Tabla 14. Resultados zootécnicos para el bioensayo 1.**

Id	1	2	3	4	5	6	7	8		9	10	
Rel A/V	41/59		60/40		41/59		60/40			UANL(60/40)		
Kelp	0%		0%		3%		3%		Prob. Factorial	3%		Prob. Anova
Dieta	Ad Lib	Rac.	Ad Lib	Rac.	Ad Lib	Rac.	Ad Lib	Rac.		Ad Lib	Rac.	
Peso inicial (g)	0.077 ±0.00	0.076 ±0.00	0.076 ±0.00	0.077 ±0.00	0.077 ±0.00	0.077 ±0.00	0.077 ±0.00	0.077 ±0.00		0.076 ±0.00	0.077 ±0.00	P=0.732
Peso 14 días (g)	0.125 ±0.01	0.128 ±0.01	0.123 ±0.01	0.127 ±0.01	0.140 ±0.01	0.123 ±0.00	0.130 ±0.01	0.124 ±0.01		0.129 ±0.01	0.121 ±0.02	P=0.464
Peso 28 días (g)	0.210 ±0.03	0.184 ±0.02	0.197 ±0.02	0.194 ±0.01	0.244 ±0.02	0.199 ±0.01	0.223 ±0.03	0.191 ±0.02		0.227 ±0.03	0.201 ±0.02	P=0.011
G P 14d (%)	62.6 ±18.8	68.6 ±18.0	61.1 ±9.0	64.2 ±12.5	81.6 ±15.4	60.9 ±5.0	68.1 ±9.3	61.6 ±13.9		69.3 ±10.5	58.6 ±19.2	P=0.498
G P 28d (%)	173.9 ±35.4ab	141.8 ±25.1a	157.3 ±26.3ab	151.0 ±18.5a	217.0 ±26.0b	160.0 ±21.1ab	188.7 ±43.3ab	149.3 ±22.7a	Alim P=0.002 Kelp P=0.028	197.9 ±35.0ab	162.8 ±24.1ab	P=0.013
IGR 14d (%)	3.4 ±0.83	3.7 ±0.74	3.4 ±0.39	3.5 ±0.53	4.2 ±0.61	3.4 ±0.22	3.7 ±0.40	3.4 ±0.61		1.9 ±0.22	1.6 ±0.43	P=0.531
IGR 28d (%)	3.6 ±0.46ab	3.1 ±0.38a	3.4 ±0.36ab	3.3 ±0.27ab	4.1 ±0.3b	3.4 ±0.29ab	3.8 ±0.53ab	3.3 ±0.33ab	Alim P=0.003 Kelp P=0.037	3.9 ±0.44ab	3.4 ±0.34ab	P=0.020
Consum 14d (gr)	0.076 ±0.00b	0.069 ±0.00ab	0.071 ±0.00ab	0.067 ±0.00a	0.085 ±0.01c	0.069 ±0.00ab	0.084 ±0.00c	0.068 ±0.01ab	Alim P=0.000 Kelp P=0.001 A*K P=0.001	0.076 ±0.00b	0.065 ±0.00a	P < 0.001
Consum 28d (gr)	0.193 ±0.02b	0.162 ±0.01a	0.175 ±0.01ab	0.157 ±0.01a	0.234 ±0.03c	0.160 ±0.0a	0.231 ±0.02c	0.159 ±0.01a	Alim P=0.000 Kelp P=0.000 A*K P=0.000	0.200 ±0.01b	0.158 ±0.01a	P < 0.001
TCA 14d	1.7 ±0.48	1.4 ±0.25	1.6 ±0.20	1.4 ±0.24	1.4 ±0.17	1.5 ±0.14	1.6 ±0.20	1.5 ±0.21		1.5 ±1.35	1.6 ±0.47	P=0.819
TCA 28d	1.5 ±0.19	1.5 ±0.17	1.5 ±0.22	1.4 ±0.14	1.4 ±0.08	1.3 ±0.18	1.6 ±0.30	1.4 ±0.18		1.3 ±0.18	1.3 ±0.16	P=0.279
Super 14d (%)	95 ±10.00	90 ±14.14	92.5 ±9.57	97.5 ±5.00	90 ±8.16	92.5 ±9.57	97.5 ±5.00	90 ±14.14		85 ±5.77	80 ±18.26	P=0.460
Super 28d (%)	87.5 ±12.58	87.5 ±15.00	90 ±14.14	92.5 ±9.57	85 ±12.91	77.5 ±17.08	95 ±10.00	80 ±8.16		82.5 ±5.00	62.5 ±5.00	P=0.084

Letras iguales muestran grupos homogéneos estadísticamente.

\*Los resultados completos del análisis factorial se dan en el anexo .

En el análisis factorial se evaluaron los factores de inclusión de Kelp, relación de proteína animal / vegetal y el protocolo de alimentación. El efecto protocolo de alimentación (alim) fue significativo para la ganancia en peso a los 28 días ( $p=0.002$ ), para la tasa instantánea de crecimiento a los 28 días (IGR) ( $p=0.003$ ) y para el consumo a los 14 y 28 días (ambas

$p < 0.0001$ ). El efecto inclusión de Kelp (Kelp) fue significativo estadísticamente para los parámetros antes mencionados ( $p = 0.028, 0.037$  y  $0.001, 0.001$  respectivamente). Para la relación de proteína animal / vegetal no se presentaron diferencias significativas.

La interacción entre el protocolo de alimentación y la inclusión de Kelp fue significativa para el parámetro consumo, tanto a los 14 como a los 28 días ( $p = 0.001$  y  $< 0.0001$  respectivamente). Por lo que se asume que entre estos factores el nivel de acción de uno de ellos sobre los parámetros evaluados fue afectado por el nivel del otro.

Se evaluó junto con las dietas comerciales, una dieta control interna elaborada en condiciones de laboratorio. Esta se sometió junto con las dietas comerciales en un análisis de varianza de una vía y posteriormente en una comparación múltiple de medias. Se le trato de esta manera por carecer de características que le permitieran ser sometida al análisis factorial. Para la ganancia en peso a los 28 días, el IGR a los 28 días y el consumo a los 14 y 28 días, el ANOVA arrojó diferencias significativas. Ya en la comparación múltiple de medias los grupos homogéneos (representados con letras iguales) muestran que aquellas dietas en donde no se ha incluido Kelp y se ha racionado la alimentación presentan los menores valores de crecimiento. Cuando se incluye Kelp y se raciona, los valores de crecimiento a los 28 días de la dieta con una proporción de proteína animal / vegetal 60/40 son iguales estadísticamente a aquellos presentados con las dietas racionadas sin Kelp. Sin embargo cabe aclarar que la dieta racionada con Kelp y 41/59 presenta el mayor crecimiento dentro del grupo que fue sometido a este protocolo de alimentación, aumentando hasta cerca de un 13 % con respecto a la dieta con menor crecimiento en estas condiciones (0% Kelp, 41/59, racionada). Con esto se infiere que el posible factor de crecimiento no está presente en la harina de Kelp, ya que su efecto de crecimiento está ligado al consumo. Los resultados obtenidos en este trabajo en cuanto al efecto de la dominancia de proteína animal o vegetal no fueron significativos estadísticamente ( $p = 0.263$ )

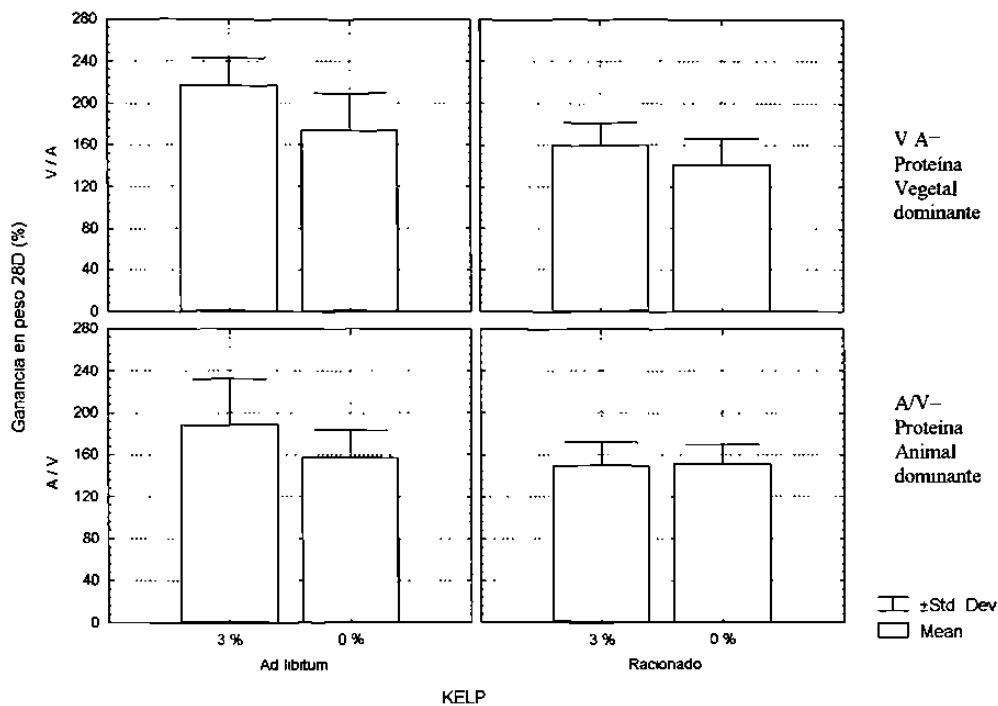
El IGR a los 28 días muestra resultados similares, siendo la dieta 41/59 4% Kelp la que presenta el mayor valor de las dietas evaluadas por lo que se separa en el grupo que presenta los valores mayores de IGR (grupo "b") sin ser diferente del resto de las dietas proporcionadas a saciedad.

En cuanto al consumo, los resultados de la comparación múltiple de medias arrojan tres grupos homogéneos. Las dietas con racionamiento en su alimentación representan al grupo de menor consumo ("a"). Por otro lado la dieta 60/40 0% Kelp no presenta diferencias con este grupo ("ab"). El grupo con los mayores consumos ("c") es el de las dietas 41/59 3% Kelp y 60/40 3% Kelp administradas a saciedad, indicando un efecto importante del kelp sobre el consumo, siendo en este caso independiente de la relación de proteína animal/vegetal. El resto de los parámetros no mostró diferencias significativas estadísticamente.

#### **8.4.2.- Ganancia en peso**

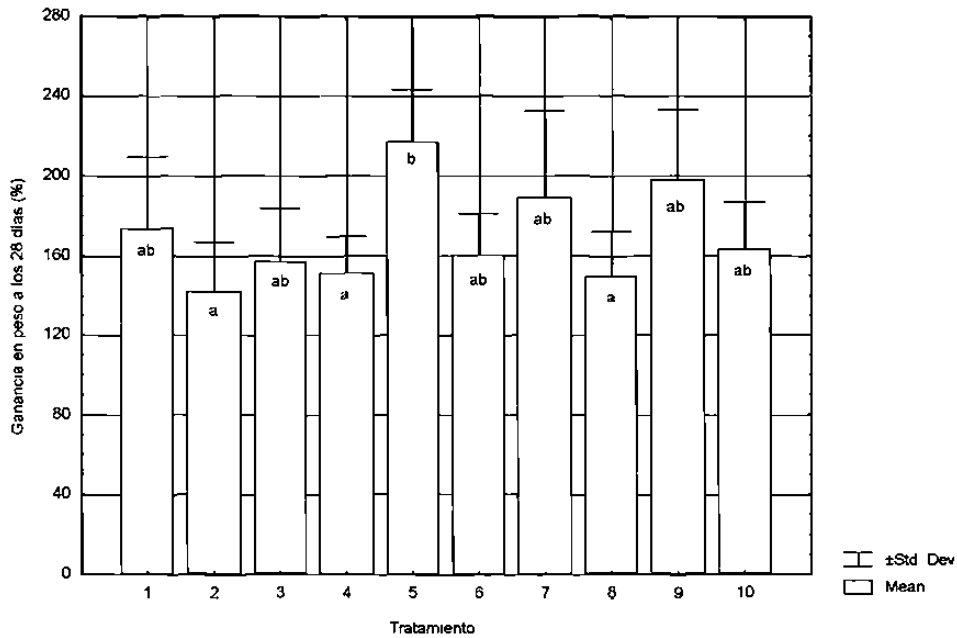
Para la ganancia en peso a los 28 días, el efecto Kelp y el protocolo de alimentación causaron efectos significativos estadísticamente. No así la proporción de proteína Animal / Vegetal. En la siguiente Grafica 2 se puede apreciar como el factor Kelp influye en el peso ganado de forma positiva cuando es incluido al 3% y cuando la proporción de proteína vegetal es mayor, sin ser significativo estadísticamente ( $F = 1.271$   $p = 0.303$ ). Así mismo se observa que no existe efecto alguno cuando el alimento es racionado a excepción de una ligera tendencia (no significativa) cuando la proporción de proteína vegetal es mayor.





**Gráfica 1. Ganancia en peso a los 28 días en un análisis de tres factores.**

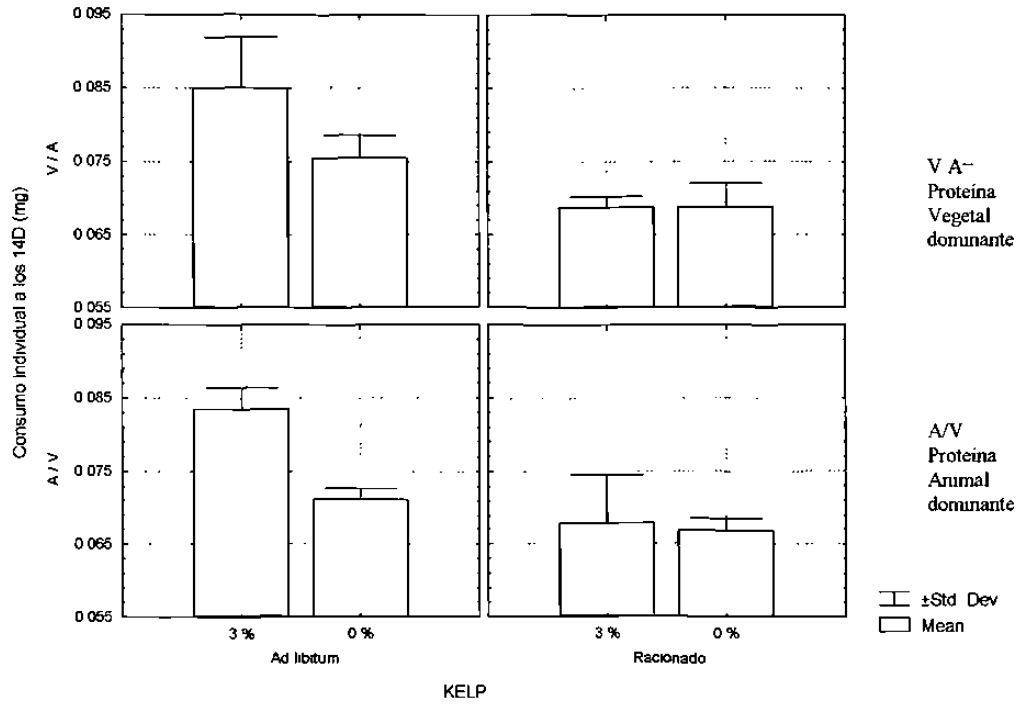
En la siguiente Grafica 3 se muestran los resultados a los 28 días para la ganancia en peso en el análisis de varianza de una vía. En ella se señalan los grupos homogéneos con letras iguales. Las dietas se enumeran según la clasificación de los tratamientos reportados en la tabla de resultados. Además se incluyen las dietas control.



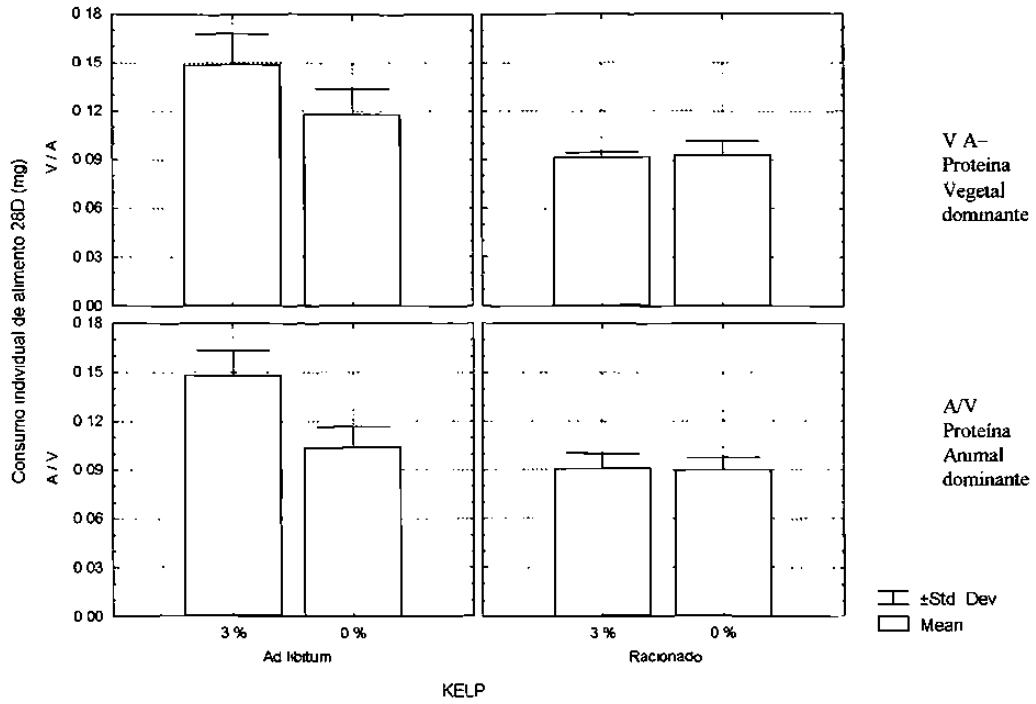
**Gráfica 2. Crecimiento (GP) a los 28 días en un análisis de varianza de una vía.**

### 8.4.3.- Consumo Individual

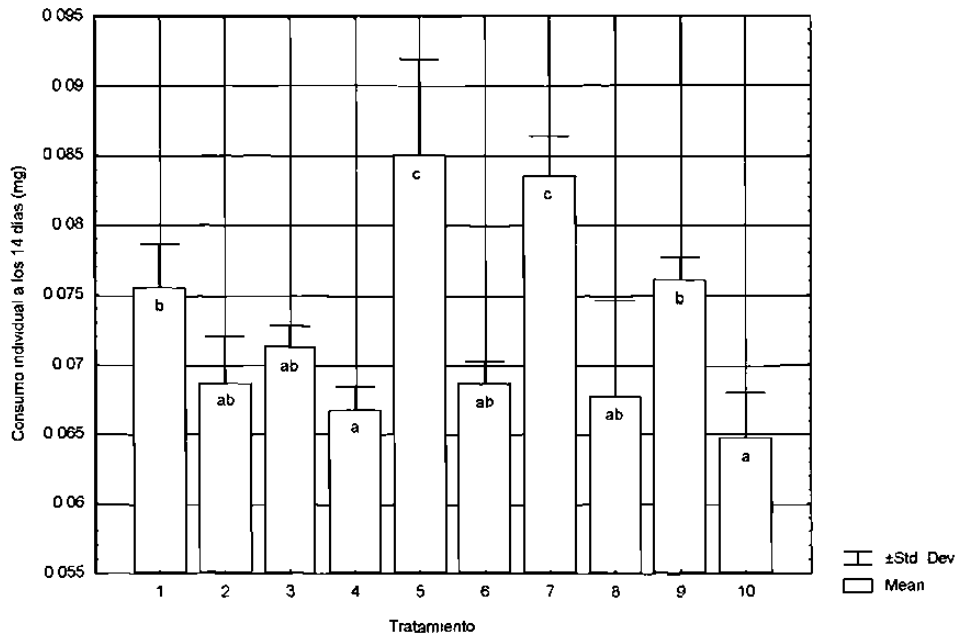
En el caso del consumo individual a los 14 y 28 días el Kelp juega un efecto significativo estadísticamente al incrementarlo cuando es incluido al 3% tanto con proteína vegetal dominante, como con proteína animal dominante (Graficas 4, 5, 6 y 7). Destaca para este parámetro la interacción significativa entre el protocolo de alimentación y la inclusión del Kelp para los 14 y 28 días, indicando simplemente que el efecto del Kelp en este parámetro se ve afectado al tipo de alimentación.



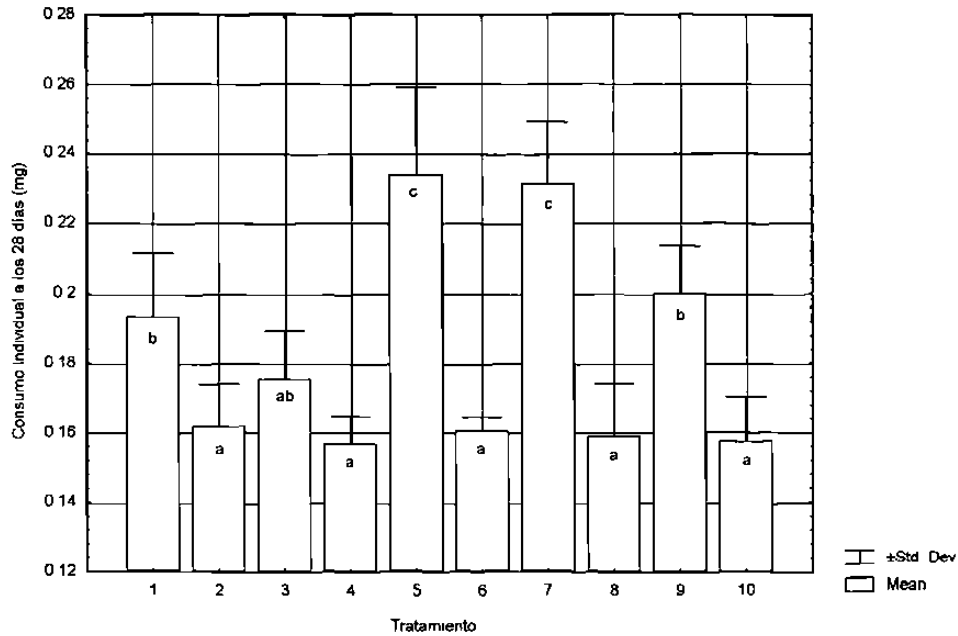
**Gráfica 3. Consumo individual a los 14 días.**



**Gráfica 4. Consumo individual de alimento a los 28 días.**



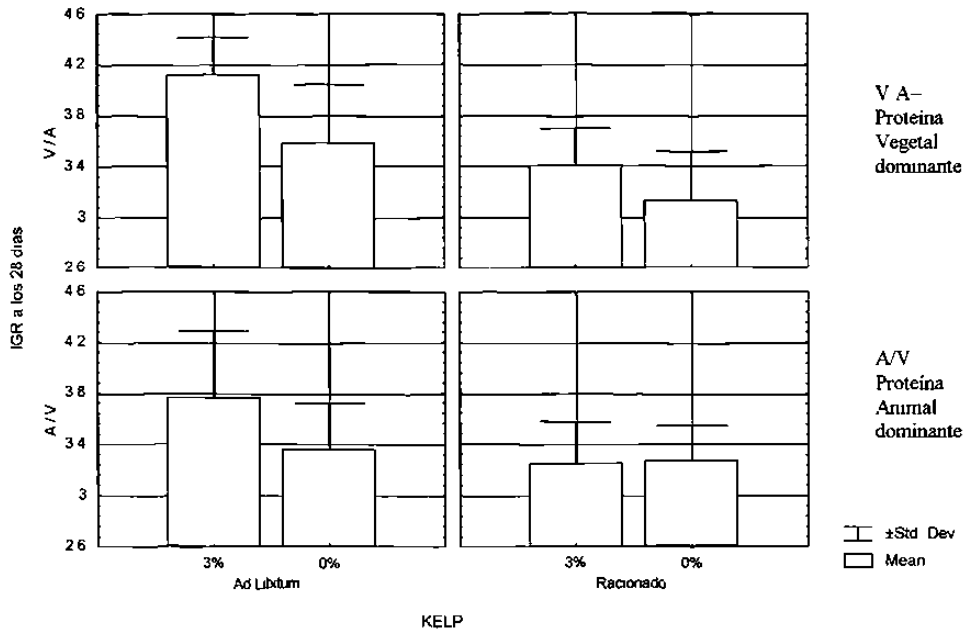
**Gráfica 5. Consumo de alimento a los 14 días en un ANOVA.**



**Gráfica 6. Consumo a los 28 días en un ANOVA.**

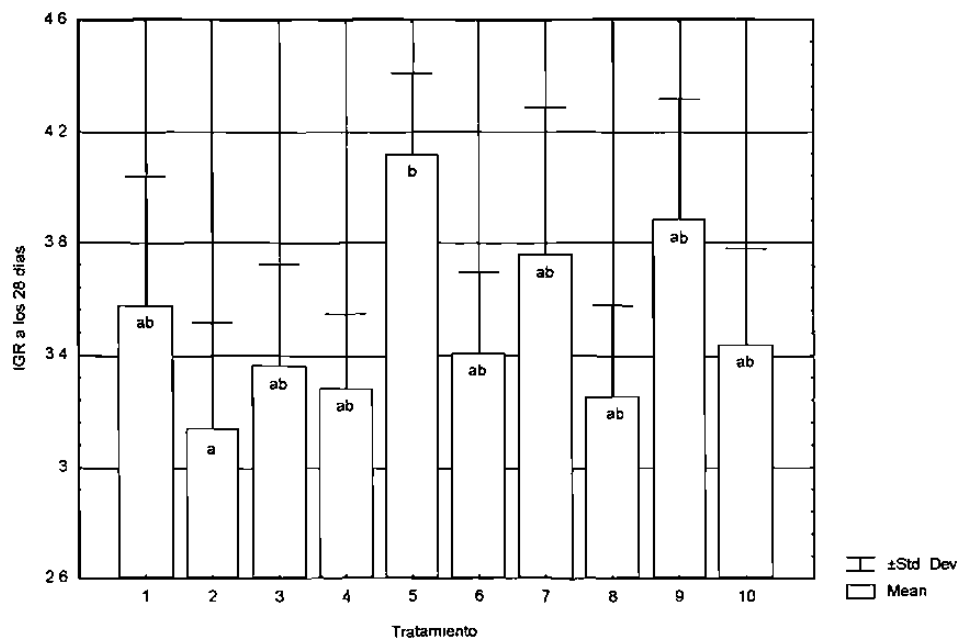
#### 8.4.4.- IGR

La tasa instantánea de crecimiento solo presentó diferencias estadísticas a los 28 días. La inclusión del Kelp y el régimen de alimentación tuvieron un efecto sobre este parámetro. En la siguiente gráfica se muestra como el efecto del Kelp incrementa la IGR en los grupos alimentados *ad libitum*. En aquellos alimentados de forma racionada se observa solamente una tendencia no significativa para proteína vegetal dominante (V/A) del efecto Kelp, incrementando el valor del IGR característica que no se observa en las dietas con proteína animal dominante.



**Gráfica 7. IGR a los 28 días en un análisis factorial.**

En la comparación múltiple de medias junto con los tratamientos de la dieta control (9 y 10), la dieta con una proporción de proteína vegetal dominante (41/59) y 3% de Kelp presenta la mayor tasa instantánea de crecimiento.



**Gráfica 8. IGR a los 28 días en un anova.**

## 8.5.- Bioensayo de crecimiento 2.

### 8.5.1.- Resultados generales

En el segundo experimento de crecimiento, se evaluaron dietas elaboradas en condiciones de laboratorio con dos inclusiones de Kelp (0 y 4%) y dos aglutinantes: gluten de trigo y un aglutinante puro (alginato de sodio 3%). En la siguiente tabla se muestran los resultados registrados a los 14 y 28 días de experimentación y mediante un análisis de varianza de una vía.

**Tabla 15.- Resultados zootécnicos para el bioensayo 2.**

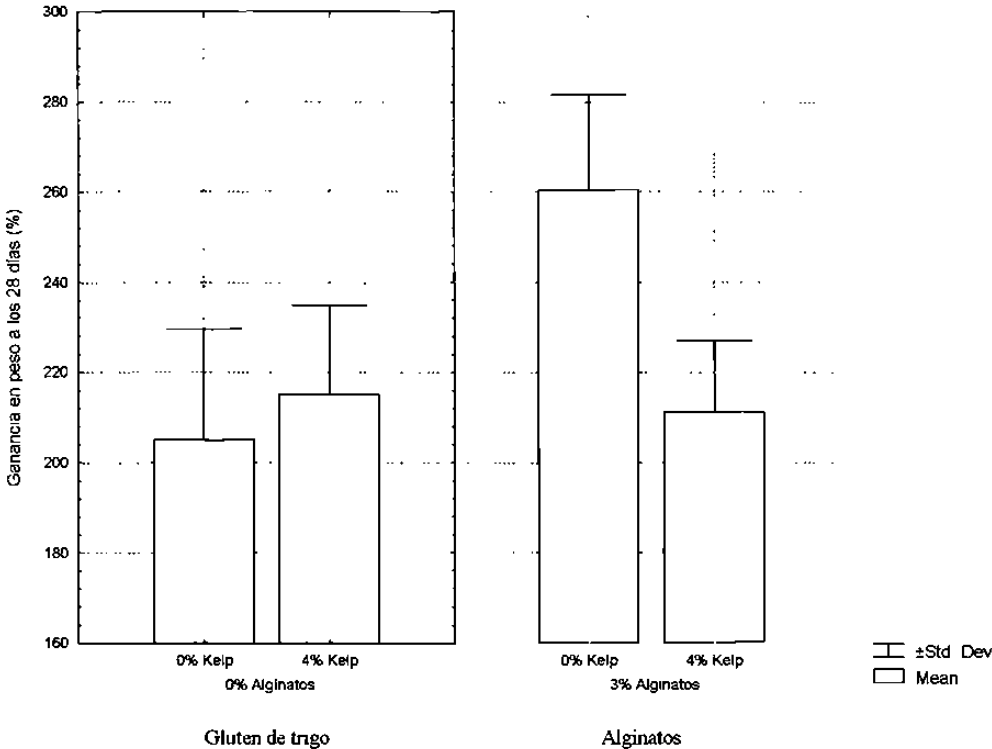
ID	1	2	3	4	
	K0A0	K4A0	K0A3	K4A3	
<i>Aglutinante</i>	<i>Gluten de trigo</i>		<i>Alginato de sodio</i>		
<i>Kelp</i>	0%	4%	0%	4%	<i>P ANOVA</i>
Peso Inicial (mg)	487.5 +5.3	481.7 +4.1	488.6 +5.1	486.3 +4.9	P= 0.255
Peso 14 días (mg)	888.1 +52.4	894.5 +58.1	978.5 +51.8	911.8 +45.5	P= 0.107
Peso 28 días (mg)	1487.2 ±124.8	1518.5 ±107.4	1762.2 ±117.2	1513.6 +66.3	P= 0.011
G P 14d (%)	82.2 +10.2	85.7 +11.4	100.2 ±9.6	87.5 ±9.6	P= 0.113
G P 28d (%)	205.0 +24.6a	215.1 +19.9a	260.5 +21.3b	211.3 +15.7a	P= 0.01
Consumo individual 14 días (mg)	627.2 +32.2	631.9 +84.6	744.7 +46.4	646.8 +56.0	P= 0.045
Consumo individual 28 días (mg)	1763.7 ±231.0	1855.1 ±212.5	2051.6 ±194.5	1859.0 ±158.5	P= 0.276
Consumo a 28 días corregido por lixiviación (mg)	1600	1620	1920	1620	
TCA 14 días	1.6 ±0.2	1.5 ±0.2	1.5 +0.1	1.5 ±0.0	P= 0.934
TCA 28 días	1.76 +0.1	1.79 ±0.1	1.61 +0.1	1.81 ±0.1	P= 0.05
TCA 28 días corregida por lixiviación	1.60	1.56	1.51	1.67	
IGR 14 días (‰)	2.138 ±0.198	2.205 ±0.215	2.476 ±0.174	2.242 +0.182	P= 0.126
IGR 28 días (‰)	3.975 +0.283a	4.094 +0.226a	4.575 +0.209b	4.053 ±0.182a	P= 0.012
Supervivencia 14d (%)	85.0 ±12.9	87.5 ±9.6	85.0 +10.0	80.0 ±8.2	P= 0.777
Supervivencia 28d (‰)	80.0 +18.3	82.5 +5.0	85.0 +10.0	80.0 +8.2	P= 0.884

### 8.5.2.- Crecimiento

La ganancia en peso a los 14 días no presentó diferencias significativas en el análisis de una vía. A los 28 días las diferencias entre dietas son significativas estadísticamente ( $p = 0.001$ )



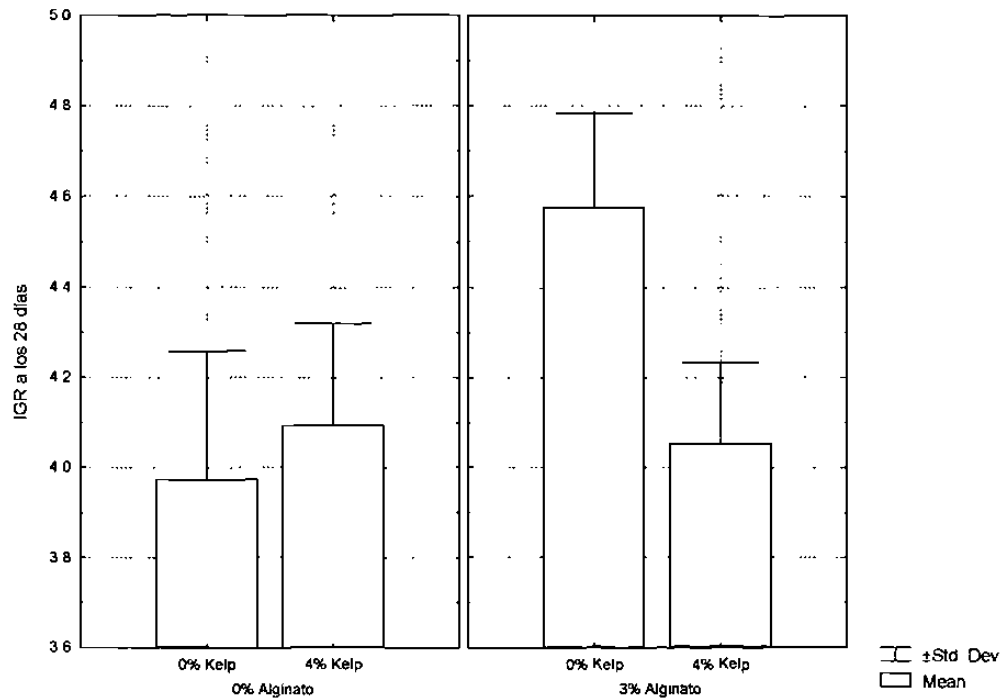
afectando la ganancia en peso al final del experimento. En la grafica siguiente (No. 10) se muestran los resultados para la ganancia en peso.



**Gráfica 9. Resultados para la GP 28 días.**

Se puede observar como la dieta con 3% de alginato y sin inclusión de Kelp es la que se separa de las demás dietas, alcanzando un crecimiento 21% mayor que la dieta mas próxima (4% Kelp con gluten de trigo). Cabe aclarar que la dieta con 3 % de alginato y 3 % de Kelp se acerca a los resultados obtenidos en GP con la dieta similar considerada como control interno (UANL) en el experimento 1 (195 y 211% respectivamente).

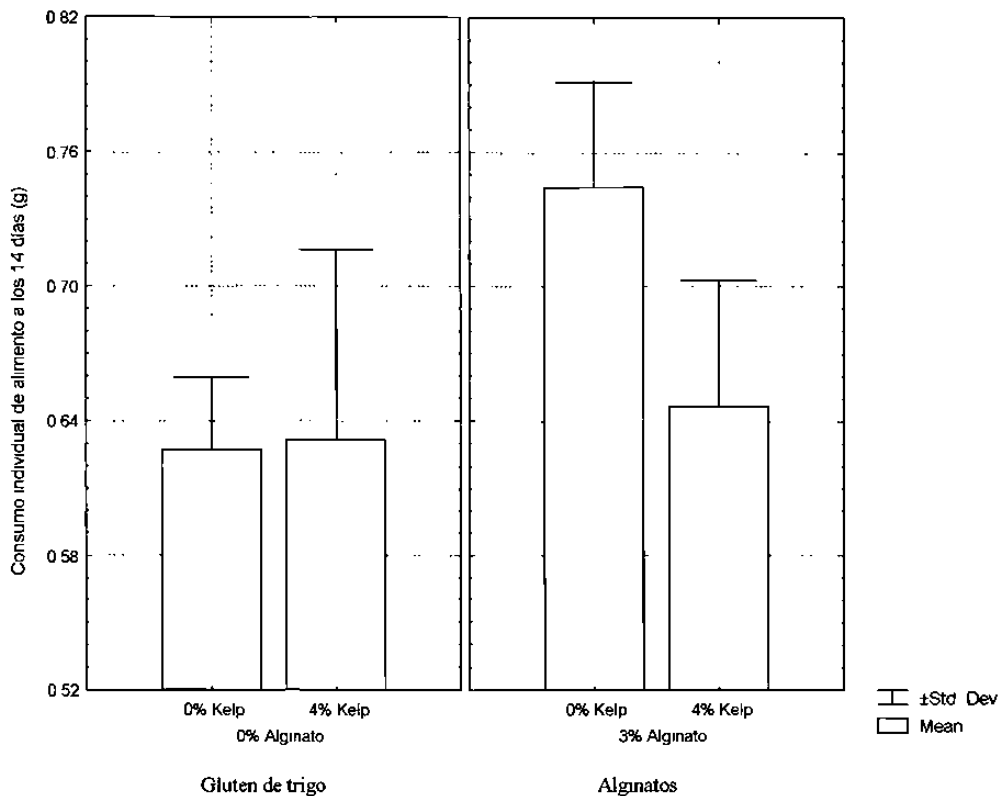
Como en los resultados anteriores la variabilidad en los datos enmascara de alguna forma los resultados objetivos de la inclusión del Kelp y el alginato en la tasa instantánea de crecimiento (IGR). La dieta sin Kelp y con alginato es la que presenta el mayor valor para el IGR. Tendencias positivas son observadas al incluirse el Kelp en las dietas sin alginatos.



**Gráfica 10. IGR a los 28 días para el bioensayo 2.**

### 8.5.3.- Consumo

El consumo a los 14 días presentó diferencias significativas en el ANOVA. Este aumento cuando el alginato estaba incluido en la dieta en ausencia de Kelp. A los 28 días no se observó este efecto de forma significativa, aunque se conservan las tendencias observadas a los 14 días.



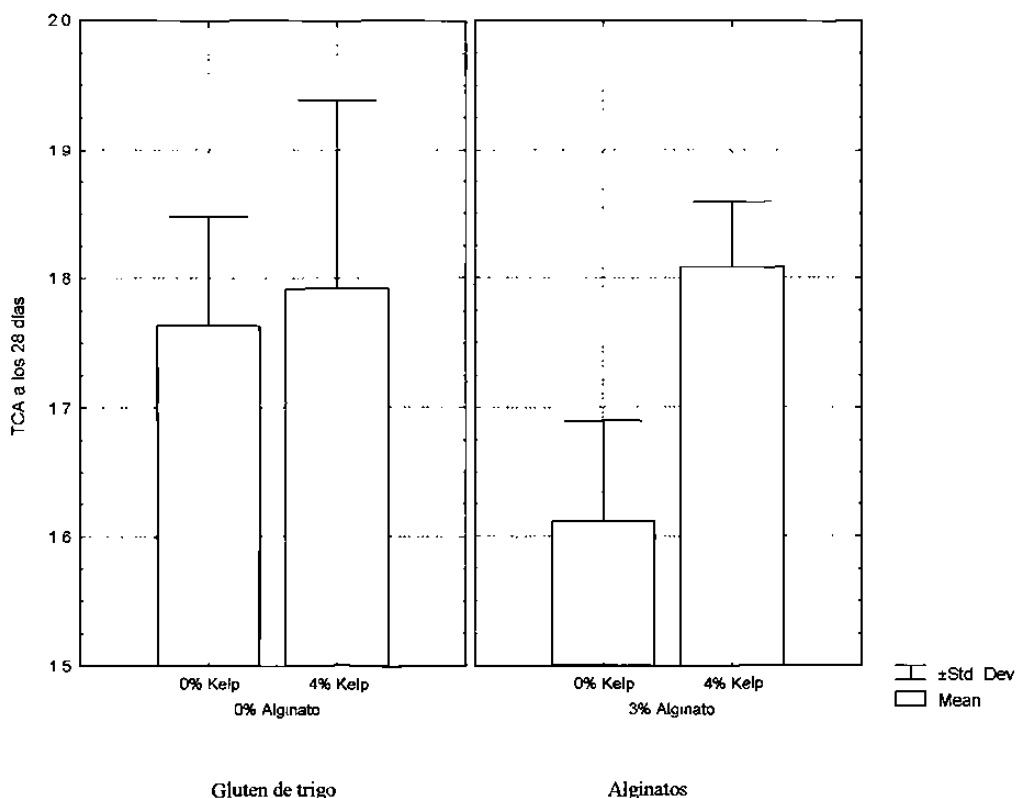
**Gráfica 11. Consumo individual a los 14 días en un análisis de una vía.**

En el análisis de varianza de una vía, se aprecia como la dieta con alginato y sin kelp se separa del resto obteniendo consumos a los 14 días de hasta un 13% mayor a los obtenidos por la dieta con alginato y con Kelp. Al corregir el consumo de alimento por el porcentaje de pérdida de materia seca, observamos que este parámetro mantuvo la misma tendencia, siendo de 1.6, 1.62, 1.92 y 1.7 para las dietas 1, 2, 3 y 4.

#### **8.5.4.- Tasa de conversión alimenticia.**

La tasa de conversión alimenticia a los 28 días presentó diferencias significativas estadísticamente. Las dietas con 4% de Kelp presentaron los mayores valores aludiendo al efecto promotor de consumo del mismo (1.79, 1.81 respectivamente) reportado en el experimento 1. La dieta sin Kelp con alginato presentó el menor valor (1.61).

Al considerar una corrección del consumo por lixiviación las tasas de conversión se igualan alrededor de 1.6; la dieta sin kelp y con alginato sigue teniendo el mejor resultado y la dieta con kelp y alginato sigue teniendo el peor valor.



Gráfica 12. Tasa de conversión alimenticia a los 28 días para el bioensayo 2.

## 9.- DISCUSIONES.

### Efecto de la harina de Kelp sobre las propiedades físicas de los alimentos comerciales y experimentales utilizados en el bioensayo 1 y 2.

La estabilidad global de todas las dietas evaluadas fue excelente debido principalmente al tamaño de partícula de las mezclas de ingredientes, la cual fue controlada durante el proceso asegurando que todas las mezclas pasaran en mas de un 95% a través de un tamiz de malla 60 (250 micras).

En el presente experimento la pérdida de materia seca fue mucho menor a lo anteriormente reportado en alimentos comerciales (5 y 8%), indicando que esta planta de alimentos se ha preocupado por mejorar los procesos de elaboración de los alimentos para camarón.

De acuerdo a lo esperado la inclusión de harina de Kelp aumenta la pérdida de materia seca y la capacidad de absorción de agua, independientemente de la relación de proteína animal / vegetal. Cuando se presenta, la mayor absorción de agua en las dietas con proteína vegetal dominante se atribuye al mayor contenido de harina de trigo, ya que los almidones gelatinizados y el gluten del trigo tienen mayor capacidad de absorber agua que la harina de pescado.

Tanto la inclusión de Kelp como de alginato de sodio en los alimentos experimentales aumentan el porcentaje de ceniza debido al alto contenido de esta en la harina de Kelp en primer lugar y en segundo por el sodio presente en el alginato.

La absorción de agua aumenta principalmente por el efecto del alginato de sodio; esto concuerda con lo reportado anteriormente donde se encontraron porcentajes de absorción de agua de 180% en alimentos con 3% Kelp y 1% de hexametáfosfato de sodio y de 130 y 150% con la inclusión de 2 y 4% de Kelp como único aglutinante (Cruz-Suárez, 2000a).

Haciendo un análisis de la capacidad de absorción de agua de los alimentos comerciales y experimentales utilizados en los dos bioensayos, se observa que los alimentos comerciales con Maxibond o con Kelp tienen una capacidad de absorción menor que los alimentos experimentales observándose que de forma gradual esta capacidad esta en función del aglutinante usada, siguiendo el siguiente patrón:

Comercial peletizado (trigo) + Maxibond (1%) = 70%

Comercial peletizado (trigo) + Kelp (3%) = 116%

Experimental extrusión húmeda (trigo) + Gluten de trigo sin Kelp (5.6%) = 101%

Experimental extrusión húmeda (trigo) + Gluten de trigo + Kelp (4%)= 122%

Experimental extrusión húmeda (trigo) + Alginato (3%) sin Kelp = 195%

Experimental extrusión húmeda (trigo) + Alginato (3%) + Kelp (4%)= 186%

De igual manera para la pérdida de materia seca, la estabilidad es mayor en alimentos comerciales peletizados cuando se incluye Maxibond y Kelp como aglutinante (1.8-2.7% y 2.9-2.5% respectivamente) en relación con los alimentos experimentales con gluten (9.2-12.5%) y alginato (6.3-7.5%).

### **Efecto del racionamiento y de la proporción proteína animal / vegetal en alimentos con Kelp y sin Kelp.**

Los mayores consumos y crecimientos se obtuvieron en forma general cuando las dietas fueron suministradas a saciedad. El racionamiento fue tal que el efecto del Kelp observado en el consumo y crecimiento fue suprimido no encontrándose diferencias estadísticas entre las dietas en esta condición.

Por otro lado se observa otra condición limitante intrínseca en las dietas, al no haber diferencias estadísticas en crecimiento entre las mismas al ser racionadas y suministradas *ad libitum* cuando no se incluye Kelp. Es hasta que este ingrediente se encuentra en la dieta, que se sobrepasa esta limitante y se alcanzan rendimientos hasta de un 26-35% mayores que en la condición restringida. Esta limitante no se ve reflejada en el consumo, el cual aumenta en las dietas *ad libitum* con respecto a los tratamientos racionados, para todas las dietas (19% D1, 11% D2, 46% D5, 45% D6). Este aumento fue independiente de la proporción de proteína animal/vegetal en la dieta; sin embargo la intensidad del cambio si varia en cuanto a la inclusión de kelp, siendo mayor cuando esta presente (D5 y D6). De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo en especial la ausencia de efecto sobre tasa de conversión tanto en condiciones de alimentación *ad libitum* como racionada, la presencia de un factor promotor de crecimiento no fue observada.

La relación de proteína animal/vegetal no presento algún efecto significativo en los parámetros evaluados, Cruz-Suárez *et al.* (2000b) encuentran que la proporción de proteína animal dominante favorece el rendimiento de los camarones. En el actual estudio, no se encontró efecto significativo sobre ningún parámetro biológico evaluado. Por otro lado,

Cruz-Suárez *et al* (2000a) evaluaron niveles de proteína del 25%; niveles superiores en las dietas evaluadas en el presente estudio suponen un exceso de proteína enmascarando características que en condiciones limitantes podrían ser fácilmente observadas. El hecho de haber encontrado resultados opuestos a los anteriormente reportados se debe posiblemente a que la calidad de la proteína vegetal utilizada fue mucho mejor que la proteína de origen animal, por lo que influyó directamente sobre el desempeño de los camarones en crecimiento.

### **Comparación de la inclusión de alginato de sodio o gluten de trigo en el desempeño del camarón en dietas experimentales.**

De acuerdo a lo obtenido en los resultados de crecimiento el alginato de sodio resultó ser el principal componente de la harina de kelp causante los mejores resultados. En base a lo anteriormente mencionado con respecto a las propiedades físicas, una mayor absorción de agua (proporcionada principalmente por el alginato) favorece la formación de un pelet con textura suave (Cruz-Suárez *et al.*, 2000a) que al parecer favorece el consumo por una consistencia similar al alimento natural (80% de agua), teniendo un efecto directo sobre el consumo de alimento y por ende sobre la ganancia en peso.

Este efecto en el consumo puede producir en condiciones comerciales un incremento en la tasa de conversión, debido a que el organismo sigue consumiendo alimento pero su potencial de crecimiento se vera limitado en determinado momento. Por otro lado, el racionamiento excesivo debe de cuidarse ya que como se observo en el presente estudio limita de forma importante el efecto de la harina de kelp pudiendo obtener crecimientos similares con dietas sin este ingrediente.

## 10.- CONCLUSIONES

La inclusión del 3% de Kelp *Macrocystis pyrifera* en los alimentos peletizados comerciales usados en este estudio funciona como un excelente aglutinante y texturizante, ya que al aumentar la capacidad de absorción de agua del pelet este adquiere una consistencia suave al absorber agua del medio.

La capacidad aglutinante y gelificante de la harina de Kelp se debe principalmente a su contenido de alginato.

No existe una correlación significativa entre la capacidad de absorción de agua de las dietas y la estabilidad de las dietas (PMS).

La capacidad de absorción de agua en las dietas depende entre otros del contenido y el tipo de almidón que contenga y de la presencia de ficocoloides y de aglutinantes sintéticos. La absorción de agua en los alimentos disminuyo dependiendo del aglutinante en el siguiente orden de importancia: Alginato al 3% > Kelp > Gluten > Maxibond.

Considerando la correlación entre la proporción de alginato y el porcentaje de absorción de agua en los alimentos evaluados con Kelp reportada por otros autores y los resultados obtenidos en este estudio se concluye que la capacidad de absorción de agua que transfiere la harina de Kelp al alimento se debe a su contenido de alginato.

La relación de proteína animal / vegetal, no afecto de forma significativa el efecto del Kelp sobre los rendimientos del camarón alimentado con dietas comerciales peletizadas.

La inclusión de harina de 3-4% de Kelp en alimentos comerciales peletizados incrementa la tasa de crecimiento debido a un mayor consumo del alimento por lo que la alimentación no debe ser racionada ya que se perdería parte del efecto del Kelp.



La capacidad de absorción de agua de los alimentos comerciales del bioensayo 1 presento una correlación positiva significativa con el consumo y la tasa instantánea de crecimiento, por lo que puede considerarse como uno de los principales factores responsables de los efectos observados en el rendimiento de camarones alimentados con dietas con harina de Kelp.

## 11.- LITERATURA CITADA.

- Accorinti J., 1992. Tryptamine derivatives and other indolyl compounds in the brown algae *Macrocystis pyrifera* (L) C. Agardh. *Revue internationale D'oceanographie medicale*. 107-108 (0): 51-58.
- Aguilar-Rosas L. E., Aguilar R.R., Marcos R. M., Gutiérrez C.V., 1997. El sargacero. La cosecha de un gigante. *Divulgare*, num. 10 p.p. 54-57.
- Akiyama D., Dominy W., Lawrence, A. L., 1993. Nutrición de Camarones Peneidos Para la Industria de Alimentos Comerciales. En Cruz-Suárez, L. E., Ricque Marie, D., y Mendoza-Alfaro, R. *Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Para Acuicultura*. Mty, N. L. México.
- Aquacop, 1978. Study on nutritional requirements and growth of *Penaeus merguensis* in tanks by means of purified and artificial diets. *Proceedings, World mariculture society*. USA. 9:225-234.
- Association of Official Analytical Chemists., 1990. *Official methods of analysis*. Edited by Kenneth Helrich. 15th Edition. Arlington Virginia, U.S.A. Vol. 1: 684 pp.
- Carrillo-Domínguez S, Casas-Valdés M. M., Castro-González M.I.; Perez-Gil, R.F., García V R., 1990 The use of *Macrocystis pyrifera* seaweed in broilers diets. *Investigación agraria producción y sanidad animales* 5 (3): 137-142.
- Castro-González M.I, Carrillo-Domínguez S, Pérez-Gil F., Manzano R., Rosalcs E., 1991. *Macrocystis pyrifera*: Potential resource for animal feeding. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 25 (1): 77-81.

- Castro-González M.I., Carrillo-Domínguez S., Pérez-Gil F., 1994. Chemical composition of *Macrocystis pyrifera* (Giant Sargazo) collected in summer and winter and its possible use in animal feeding. *Ciencias Marinas* 20(1): 33-40.
- Chevolot L., Foucault A., Chaubet F., Kervarec N., Sinquin C., Fisher A.M., Boisson – Vidal, C., 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: Relationships with anticoagulant activity. *Carbohydrate-Research*, 319 (1-4): 154-165.
- Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Guajardo-Barbosa C., 2000a. Uso de harina de Kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón . In: Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Olvera-Novoa M. y Civera-Cerecedo R., (Eds). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida Yucatán.
- Cruz-Suárez L.E., Antimo-Pérez J.S., Luna-Mendoza N., Tapia-Salazar, M., Guajardo-Barbosa, C., Ricque-Marie, D., 2000b. Relaciones proteína/energía y proteína vegetal/animal optimas en alimentos de engorda para *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris*. In: Cruz -Suárez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Olvera-Novoa M.A. y Civera-Cerecedo R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- Dalmo R.A., Seljelid R., 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran [(1,3)-D-glucan] on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., macrophages *in vitro*. *Journal of fish diseases*. 18, 175-185.
- Daniel, W. W., 1989, *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. Editorial LIMUSA, S.A. de C. V. Grupo Noriega Editores, sexta reimpression de la tercera edición 1999.
- Fujiki K., Matsuyama H., Yano T., 1994. Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 17(4), 349-355.

- Gojon-Báez H.H., Siqueiros-Beltrones D.A., Hernández-Contreras H., 1998. *In situ* ruminal digestibility and degradability of *Macrocystis pyrifera* and *Sargassum spp.* in bovine livestock. *Ciencias-Marinas*. 24 (4) 463-481.
- González-Aviles J.G., Shepherd S.A., 1996. Growth and survival of the blue abalone *Haliotis fulgens* in barrels at Cedros Island, Baja California, with a review of abalone barrel culture. *Aquaculture* 140 (1-2): 169-176.
- Graham-Michael H., 1997. Factors determining the upper limit of giant kelp, *Macrocystis pyrifera* Agardh, along the Monterey Peninsula, central California, USA. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. Nov. 1, 1997; 218 (1) 127-149.
- Guzmán-del Proo S.A., Casas-Valdés M., Díaz-Carrillo A., Díaz-López M., Pineda-Barrera J. Sánchez-Rodríguez M.E., 1986. Diagnóstico sobre las investigaciones y explotación de las algas marinas en México. SEP. IPN. CICIMAR. *Inv. Mar. CICIMAR*, 3(II):1-63.
- Hernández-Carmona G., 1996. Frond elongation rates of *Macrocystis pyrifera* (L.) Ag. at Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas* 22 (1): 57-72.
- Key T.J.A., Thorogood M., Keenan J., Long A., 1992. Raised thyroid stimulating hormone associated with Kelp intake in British vegan men. *Jour. Of Hum. Nutr. And Diet.* 5 (5):323-326.
- Kloareg, B.; Ar Gall E., Asensi A., Billot C., Crepineau F., Moulin P., Boyen C., Valero M., 1999. Molecular and cellular approaches of reproduction, biology and genetic improvement in laminarialean kelps. *World Aquaculture magazine*, 30 (1), 23-25.
- Lawrence J.M., Olave S., Otaiza R., Lawrence A.L., Bustos E., 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. *Journal of the World Aquaculture Society* 28 (1): 91-96.
- Lee-Dong S., Nam-Taek J., Pyeun-Jae H., 1998. Effect of low molecular alginates on cholesterol levels and fatty acid composition of serum and liver lipids in cholesterol fed rats. *Journal of the Korean Fisheries Society*. 31 (3) 399-408.
- Marsden I.D., Williams -P. MJ., 1996. Factors affecting the grazing rate of the New Zealand abalone *Haliotis iris* Martyn. *Journal of Shellfish Research* 15 (2): 401-406
- Mauray S., De-Raucourt E., Chaubet F., Maiga-Revel O., Sternberg C., Fischer A.M., 1998. Comparative anticoagulant activity and influence on thrombin generation of

- dextran derivatives and of a fucoidan fraction. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 9 (4) 373-387.
- Millet J., Collic-Jouault S, Mauray S., Theveniaux J., Sternberg C., Boisson-Vidal C., Fischer A.M., 1999. Antithrombotic and anticoagulant activities of a low molecular weight fucoidan by the subcutaneous route. *Thrombosis and Haemostasis*. 81 (3) 391-395.
- Nakagawa H., 1997. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. *Biomed Pharmacother*. 51 (8):345-8.
- Okai Y., Ishizaka S., Higashi-Okai K., Yamashita U., 1996. Detection of immunomodulating activities in a extract of Japanese edible seaweed, *Laminaria japonica* (Makonbu). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 72 (4): 455-460.
- Okai Y., Higashi-Okai K., Ishizaka S., Ohtani K.; Matsui-Yuasa I., Yamashita U., 1998. Possible immunomodulating activities in an extract of edible brown alga, *Hijikia fusiforme* (Hijiki). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76 (1) 56-62.
- Ortega M., 1983. Sargazo Gigante. INIREB, informa. Comunicado no 12, sobre recursos bióticos potenciales del país.
- Pedroza-Islas R., Medina-R. C., Acosta-R. M., 2000. Uso de ficocoloides en la nebulización de microdietas para larvicultura marina. *Ciencia y Mar*. Vol.IV, Num.11. pp. 27-34.
- Rehm-B. H.A., Valla S., 1997. Bacterial alginates: Biosynthesis and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48 (3): 281-288.
- Riou D., Collic-Jouault S., Du Sel D.P., Bosch S., Siavoshian S., Le-Bert V., Tomasoni C., Sinquin C., Durand P., Roussakis C., 1996. Antitumor and antiproliferative effects of a fucan extracted from *Ascophyllum nodosum* against a non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line. *Anticancer Research*. 16 (3A): 1213-1218.
- Rodríguez Montesinos, Y. F., Hernández-Carmona, G., 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. *Ciencias Marinas*, Vol. 17, No. 3, pp. 91-107.
- Stuart M.D., Brown M.T., 1994. Growth and diet of cultivated black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). *Aquaculture* 127 (4): 329-337.

- Vásquez J.A., 1999. The effect of harvesting of brown seaweeds: a social, ecological and economical importance resource. *World Aquaculture Magazine*. 31(1), 1999, 19-22.
- Vaugelade P., Hoebler C., Bernard F., Guillon F., Lahaye M., Duee PH., Darcy-Vrillon B., 2000. Non-starch polysaccharides extracted from seaweed can modulate intestinal absorption of glucose and insulin response in the pig. *Reprod. Nutr. Dev.* 40 (1): 33-47.
- Viana M.T., Cervantes-Trujado M., Solana Sansores, R., 1994. Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Haliotis fulgens*): Nine ingredients used in artificial diets. *Aquaculture* 127 (1): 19-28.
- Viana M.T., López L.M., García-Esquivel Z., Méndez E., 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. *Aquaculture* 140 (1-2): 87-98.
- Villarreal-Rivera L., 1994. Content of alginates in ten species of phaeophyte algae on the Mexican coast. *Phyton (Buenos Aires)* 56 (0): 109-111.
- Vozzhinskaya V.B., Kuzin V.S., 1994. Productivity of Laminariales in the World Ocean. *Izvestiya Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya (Moscow)* 0 (2): 308-312.
- Xue C., Yu G., Hirta T., Terao J., Lin H., 1998. Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in phosphatidylcholine-liposomal suspension and organic solvents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62 (2): 206-9.
- Yan X., Chuda Y., Suzuki M.; Nagata T., 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 63 (3): 605-607.



