

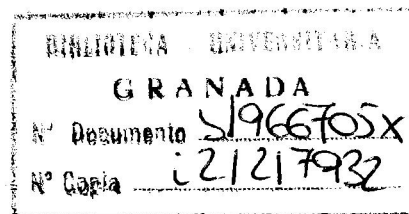
T
15
28

FACULTAD DE CIENCIAS

VALORACION DE LA UTILIZACION NUTRITIVA
DE MATERIAS PRIMAS ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO
COMO COMPONENTES DE DIETAS COMERCIALES
PARA LA TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss*)

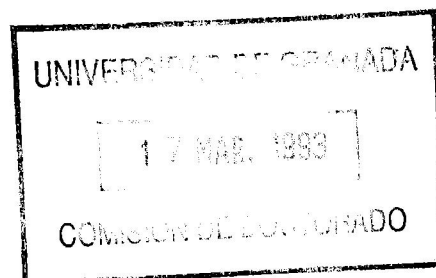
A. Encarnación Morales Hernández

TESIS DOCTORAL



UNIVERSIDAD DE GRANADA

1993



**VALORACION DE LA UTILIZACION NUTRITIVA DE MATERIAS PRIMAS
ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO COMO COMPONENTES DE
DIETAS COMERCIALES PARA LA TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss*)**

**Memoria que presenta la Licenciada en Ciencias
Biológicas D^a. A. Encarnación Morales Hernández
para aspirar al grado de Doctora.**

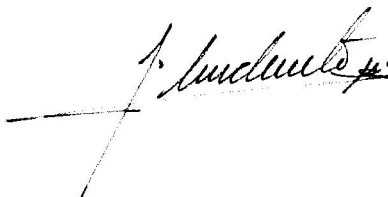


Fdo. A. Encarnación Morales Hernández

LOS DIRECTORES DEL TRABAJO



**Fdo:
Dr. D. Manuel de la Higuera
González**



**Fdo:
Dr. D. Gabriel Cardenete
Hernández**



**Fdo:
Dra. D^a. Ana Sanz Rus**

Parte del presente trabajo ha sido subvencionado por los Proyectos de Investigación:

"Fuentes proteicas alternativas en piscicultura". Proyecto 0039.9 de la Junta de Andalucía.

"Mejora de la biodisponibilidad de los aminoácidos, a emplear en la suplementación de proteínas de baja calidad, como estrategia en la formulación de dietas comerciales para peces". Proyecto MAR89-0412 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología.

Asimismo, algunos de los resultados recogidos en esta Memoria, han sido presentados a la Comunidad Científica en el IV y V International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, celebrados en Biarritz (1991) y Santiago de Chile (1992).

Cuando se escribe la última línea, cuando se imprime la última página, cuando el trabajo puede considerarse finalizado y el cansancio comienza a dar paso a la alegría y la satisfacción, parece que apenas hubieran pasado unos días desde que todo comenzó. Pero no es ésta la realidad, han sido años de trabajo durante los cuales me he visto rodeada de muchas personas que, de un modo u otro, me han ayudado a seguir adelante y a las que quiero mostrar mi agradecimiento.

En primer lugar, quisiera dar las gracias a los directores de este trabajo, D. Manuel de la Higuera González, D. Gabriel Cardenete Hernández y D^a. Ana Sanz Rus, por el valioso tiempo que me han dedicado, así como por la ayuda que me han prestado y la confianza que han depositado en mí en todo momento.

Quiero dar las gracias también a D. Eugenio Martín Cuenca, por su paciente ayuda con el ordenador y su amistad, a D. Félix Hidalgo Puertas, por su ayuda en algunos de los análisis realizados, y a D. F^{co} Javier Moyano López por su colaboración en distintos aspectos de este trabajo.

A D^a. Laura García Rejón, D^a. M^a José Sánchez-Muros Lozano, D. Manuel García Gallego, D^a. M^a Carmen Hidalgo Jiménez y D^a. M^a Dolores Suárez Medina, gracias también por su amistad y constante apoyo a lo largo de estos años.

Al resto de compañeros de la Unidad de Fisiología Animal, Anabella, Miguel Angel, Houda, Consuelo, Jesús y Esmeralda, los cuales me han prestado su ayuda y amistad y han hecho que las largas horas en el laboratorio se hicieran más agradables.

Al Ministerio de Educación y Ciencia que, con la concesión de una Beca del Plan de Formación de Personal Investigador, facilitaron en gran medida la realización de este trabajo.

A Jose, gracias por estar a mi lado y por ayudarme y apoyarme en todo momento.

Para finalizar, quisiera dar las gracias a toda mi familia, que en todo momento me han animado a seguir adelante.

Como es lógico, hay personas a las que no basta con darles las gracias, ya que, simplemente, el hecho de su presencia, apoyándome constantemente, hace que un simple agradecimiento parezca insuficiente. Es por ello que les quiero dedicar este trabajo, a buen seguro de que el verlo finalizado les hace tan felices como a mí

A mis padres
A mis hermanos

ABREVIATURAS

CDA: Coeficiente de Digestibilidad Aparente

" E : CDA de la energía de la dieta

" EF: CDA de la energía de la materia prima experimental

" G: CDA de la grasa de la dieta

" HC: CDA de los hidratos de carbono de la dieta

" HCF: CDA de los hidratos de carbono de la materia prima experimental

" P: CDA de la proteína de la dieta

" PF: CDA de la proteína de la materia prima experimental

" MELN: CDA del material extractivo libre de nitrógeno de la dieta

" MO: CDA de la materia orgánica

" MS: CDA de la materia seca

(las mismas abreviaturas, cuando no están precedidas del término CDA, se refieren al macronutriente o a la fracción dietaria correspondiente)

CDV: Coeficiente de Digestibilidad Verdadero

CEC: Coeficiente de Eficacia en Crecimiento

CIA: Cenizas insolubles en ácido

E: energía

EB (I): energía bruta (ingerida)

ED (I): energía digestible (ingerida)

EM (I): energía metabolizable (ingerida)

ER: energía retenida

EF: energía fecal (salvo cuando está precedida del término CDA, ver CDA EF)

EU+EZ: pérdidas de energía por orina y branquias

EC: energía disipada como calor

EPR: energía retenida como proteína

EGR: energía retenida como grasa

G: grasa (salvo cuando se habla de la dieta G correspondiente al Ensayo 7)

GB (I): grasa bruta (ingerida)

GD (I): Grasa digestible (ingerida)

HC: hidratos de carbono

HCB (I): hidratos de carbono brutos (ingeridos)

HCD (I): hidratos de carbono digestibles (ingeridos)

IC: Índice de Conversión del alimento
ICA: Incremento calórico de la alimentación
IN: Índice de Nutrición
N: nitrógeno
ND: nitrógeno digerido
NR: nitrógeno retenido
P: proteína
PB (I): proteína bruta (ingerida)
PD (I): proteína digestible (ingerida)
PR: proteína retenida
RHS: Relación Hepatosomática
TCI: Tasa de Crecimiento Instantáneo
VB: Valor Biológico real de la proteína
VBA: Valor Biológico Aparente de la proteína
VPP: Valor productivo de la proteína

INDICE DE CONTENIDOS

1. OBJETO	1
2. INFORMACION BIBLIOGRAFICA	5
2.1. LA ALIMENTACION DE SALMONIDOS	5
2.1.1. Necesidades de nutrientes	5
2.1.1.1. Necesidades de proteína y aminoácidos	5
2.1.1.2. Necesidades de ácidos grasos	9
2.1.1.3. Necesidades de hidratos de carbono	10
2.1.1.4. Necesidades de energía	12
2.1.1.5. Necesidades de vitaminas y minerales	13
2.1.2. Ingredientes comunmente usados en las dietas para salmónidos	14
2.1.3. Fuentes proteicas utilizadas en las dietas para salmónidos	17
2.1.3.1. La problemática de la harina de pescado	17
2.1.3.2. Fuentes proteicas alternativas a la harina de pescado	20
2.1.3.2.1. Fuentes proteicas de origen animal	21
2.1.3.2.1.1. La caseína	23
2.1.3.2.2. Fuentes proteicas de origen vegetal	24
2.1.3.2.2.1. La harina de algodón	25
2.1.3.2.2.2. La harina de altramuz	29
2.1.3.2.2.3. La harina de girasol	30
2.1.3.2.2.4. El gluten de maíz	32
2.1.3.2.2.5. La harina de soja	33
2.1.3.3. Métodos y técnicas empleadas en la mejora de la calidad nutritiva de las proteínas vegetales	35
2.2. DIGESTIBILIDAD DEL ALIMENTO EN PECES	38
2.2.1. Digestion en peces. Generalidades	38
2.2.2. Determinación de la digestibilidad del alimento. Coeficiente de Digestibilidad	41
2.2.2.2. Digestibilidad Aparente y Verdadera	46

2.2.3. Factores que afectan a la digestibilidad	48
2.3. BIOENERGETICA EN PECES	54
2.3.1. Fuentes energéticas de la dieta	54
2.3.1.1. Energía bruta	55
2.3.1.2. Energía digestible	56
2.3.1.3. Energía metabolizable	58
2.3.2. Destino de la energía metabolizable	61
2.3.2.1. Energía neta e incremento calórico de la alimentación	62
2.3.2.2. Requerimientos energéticos para mantenimiento	63
2.3.2.3. Crecimiento y retención energética	64
2.3.3. Calorimetría de peces	67
3. MATERIAL Y METODOS	71
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	71
3.1.1. Influencia del sistema de recogida de heces, del marcador inerte y del aglutinante dietario sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente	71
Ensayo 1. Influencia del método de recogida de heces sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente	71
Ensayo 2. Influencia del marcador inerte dietario sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente	72
Ensayo 3. Influencia de diferentes aglutinantes dietarios sobre el uso digestivo de los nutrientes	72
3.1.2. Cálculo del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína mediante el método de sustitución de una dieta de referencia. Comprobación mediante control cruzado. Ensayo 4	73
3.1.3. Determinación de la excreción endógena de proteína y cálculo del Coeficiente de Digestibilidad Verdadero de la proteína de la dieta.	

Ensayo 5	73
3.1.4. Influencia del método de determinación del valor calórico corporal sobre la evaluación del rendimiento energético de la dieta.	
Ensayo 6	74
3.1.5. Valoración nutritiva de diferentes materias primas. Repercusiones nutritivas derivadas de su inclusión como fuentes de proteína sustituyendo parcial o totalmente a la harina de pescado.	
Ensayo 7	75
3.1.6. Procedimientos encaminados a la mejora de la utilización nutritivo-energética de las dietas	75
Ensayo 8. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la utilización digestiva de la dieta	75
Ensayo 9. Influencia de la adición de un preparado comercial ("Nutrientes de Automultiplicación, Tipo B") sobre la utilización digestivo-metabólica de la dieta	76
Ensayo 10. Influencia, sobre la utilización de dietas con harina de girasol, de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos	77
Ensayo 11. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas vegetales y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de una dieta formulada en energía digestible	77
3.2. ANIMALES Y MANTENIMIENTO	79
3.2.1. Acuario experimental	79
3.3. DIETAS EXPERIMENTALES	85
3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	99
3.4.1. Control de peso e ingesta	99

3.4.2. Toma y procesamiento de muestras	99
3.5. METODOS ANALITICOS	103
3.5.1. Análisis de composición	103
3.5.2. Parámetros hematológicos	106
3.6. INDICES BIOLÓGICOS	106
3.6.1. Eficacia del alimento	106
3.6.2. Utilización digestiva	107
3.6.3. Utilización de la proteína	110
3.6.4. Balance energético	112
3.6.5. Índices biométricos	115
3.7. ANALISIS ESTADÍSTICO	116
4. RESULTADOS	117
4.1. INFLUENCIA DEL SISTEMA DE RECOGIDA DE HECES, DEL MARCADOR INERTE Y DEL AGLUTINANTE SOBRE LA VALORACION DEL USO DIGESTIVO DE LOS NUTRIENTES DIETARIOS	117
4.1.1. Influencia del método de recogida de heces sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente	117
4.1.2. Influencia del marcador inerte dietario sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente	122
4.1.3. Influencia de diferentes aglutinantes dietarios sobre el uso digestivo de los nutrientes	126
4.2. CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA MEDIANTE EL METODO DE SUSTITUCION DE UNA DIETA DE REFERENCIA. COMPROBACION MEDIANTE CONTROL CRUZADO	129

4.3. DETERMINACION DE LA EXCRECION ENDOGENA DE PROTEINA Y CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD VERDADERO DE LA PROTEINA DIETARIA	130
4.4. INFLUENCIA DEL METODO DE DETERMINACION DEL CONTENIDO CALORICO CORPORAL SOBRE LA EVALUACION DEL RENDIMIENTO ENERGETICO DE LA DIETA	131
4.5. VALORACION NUTRITIVA DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS. REPERCUSIONES NUTRITIVAS DERIVADAS DE SU INCLUSION COMO FUENTES DE PROTEINA SUSTITUYENDO PARCIAL O TOTALMENTE A LA HARINA DE PESCADO	133
4.6. PROCEDIMIENTOS ENCAMINADOS A LA MEJORA DE LA UTILIZACION NUTRITIVO-ENERGETICA DE LAS DIETAS	159
4.4.1. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la utilización digestiva de la dieta	159
4.4.2. Influencia de la adición de un preparado comercial ("Nutrientes de Automultiplicación, Tipo B") sobre la utilización digestivo-metabólica de la dieta	164
4.4.3. Influencia que, sobre la utilización de dietas con diferentes materias primas, ejerce la formulación en energía digestible y la suplementación con aminoácidos y/o mezcla de las mismas	169
4.4.3.1. Influencia, sobre la utilización de dietas con harina de girasol, de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos	169
4.4.3.2. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas vegetales y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de una dieta formulada en energía digestible	177

5. DISCUSION	185
5.1. INFLUENCIA DEL METODO DE RECOGIDA DE HECES SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE	185
5.2. INFLUENCIA DEL MARCADOR INERTE DIETARIO SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE	191
5.3. INFLUENCIA DE DIFERENTES AGLUTINANTES DIETARIOS SOBRE EL EL USO DIGESTIVO DE LOS NUTRIENTES	195
5.4. CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA MEDIANTE EL METODO DE SUSTITUCION DE UNA DIETA DE REFERENCIA. COMPROBACION MEDIANTE CONTROL CRUZADO	197
5.5. DETERMINACION DE LA EXCRECION ENDOGENA DE PROTEINA Y CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD VERDADERO	199
5.6. INFLUENCIA DEL METODO DE DETERMINACION DEL CONTENIDO CALORICO CORPORAL SOBRE LA EVALUACION DEL RENDIMIENTO ENERGETICO DE LA DIETA	201
5.7. VALORACION NUTRITIVA DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS. REPERCUSIONES NUTRITIVAS DERIVADAS DE SU INCLUSION COMO FUENTES DE PROTEINA SUSTITUYENDO PARCIAL O TOTALMENTE A LA HARINA DE PESCADO	203
5.8. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN COMPLEJO MULTIENZIMATICO COMERCIAL (KEMZYME) SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVA DE LA DIETA	228
5.9. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN PREPARADO COMERCIAL ("NUTRIENTES DE AUTOMULTIPLICACION, TIPO B") SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVO-METABOLICA DE LA DIETA	231

5.10. INFLUENCIA, SOBRE LA UTILIZACION DE DIETAS CON HARINA DE GIRASOL, DE LA FORMULACION EN ENERGIA DIGESTIBLE Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS	232
5.11. INFLUENCIA DE LA MEZCLA DE DOS FUENTES PROTEICAS VEGETALES Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS SOBRE LA UTILIZACION DE UNA DIETA FORMULADA EN ENERGIA DIGESTIBLE	236
6. CONCLUSIONES	239
7. REFERENCIAS	241

INDICE DE TABLAS

2.1. Necesidades cuantitativas de aminoácidos para el salmón chinook y la trucha arco iris	3
2.2. Concentración de nutrientes recomendada en dietas de producción para la trucha arco iris, <i>Oncorhynchus mykiss</i> , por Kg de dieta	13
2.3. Principales factores antinutritivos y tóxicos presentes en algunas semillas y granos vegetales	32
3.1. Composición de las fuentes proteicas usadas en los ensayos	88
3.2. Composición en aminoácidos de las fuentes de proteína empleadas en la formulación de las dietas	88
3.3. Composición del corrector mineral empleado en la formulación de las dietas	89
3.4. Composición del corrector vitamínico empleado en la formulación de las dietas	90
3.5. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 3	91
3.6. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 7	92
3.7. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 8	93
3.8. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 9	94
3.9. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 10	95

3.10. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 11	96
3.11. Aminograma de las dietas del Ensayo 7	97
3.12. Composición en aminoácidos "teóricamente digestibles" de las dietas de los Ensayos 10 y 11	98
4.1. Estimación de la cantidad de heces recogidas, mediante dos columnas de sedimentación, a partir de una dieta control	117
4.2. Cantidad de heces recogidas, mediante la columna de sedimentación modificada, a partir de distintas dietas experimentales	117
4.3. Composición en macronutrientes y contenido en Cr ₂ O ₃ de las heces obtenidas mediante distintos métodos de recogida	118
4.4. Influencia del método de recogida de heces sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de proteína, grasa y MELN de una dieta control	...	118
4.5. Contenido en proteína y Cr ₂ O ₃ de heces obtenidas por presión abdominal y mediante el S. Guelph modificado en distintas dietas experimentales	119
4.6. Influencia del método de recogida de heces sobre el CDA de la proteína de distintas dietas experimentales	120
4.7. Composición en macronutrientes y contenido en Cr ₂ O ₃ , CIA y Fibra bruta de las heces procedentes de una dieta control	122
4.8. Influencia del marcador inerte sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la energía de una dieta control	123

4.9. Influencia del marcador inerte sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la energía de distintas dietas experimentales	124
4.10. Influencia del aglutinante dietario sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento	126
4.11. Composición en macronutrientes y contenido en Cr_2O_3 , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} y Cu^{2+} de las heces procedentes de dietas que incluían distinto aglutinante	127
4.12. Influencia del aglutinante dietario sobre el uso digestivo de los macronutrientes y la absorción de minerales	128
4.13. Cálculo indirecto del CDA de la proteína de harina de pescado y caseína	129
4.14. Contenido en proteína endógena de heces procedentes de una dieta carente de proteína	130
4.15. Coeficiente de Digestibilidad Aparente y Verdadero de la proteína de distintas dietas experimentales	130
4.16. Valor calórico de la proteína y la grasa corporal de animales alimentados con distintas dietas experimentales	131
4.17. Retención energética, calculada de forma directa o mediante la aplicación de factores calóricos para la proteína y la grasa, en los animales alimentados con distintas dietas experimentales	132
4.18. Incremento de peso, ingesta e Índice de Conversión obtenidos, para los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales, en cada uno de los subperiodos (SP) en que se dividió el periodo experimental	134

4.19. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento	135
4.20. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la Relación Hepatosomática y el Índice de Nutrición	137
4.21. Composición en macronutrientes y contenido en Cr_2O_3 de las heces procedentes de distintas dietas experimentales	138
4.22. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la dieta y sus macronutrientes ...	139
4.23. Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la energía de las materias primas	141
4.24. Análisis de composición corporal de los animales alimentados con distintas dietas experimentales	143
4.25. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la utilización de la proteína dietaria	144
4.26. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre el destino de la energía dietaria	146
4.27. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre el reparto de las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de la dieta	151
4.28. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la utilización digestiva de los macronutrientes y las relaciones P/E de las dietas	153
4.29. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento	159

4.30. Composición en macronutrientes y contenido en Cr ₂ O ₃ de las heces ...	160
4.31. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre el CDA de los macronutrientes y la dieta	161
4.32. Influencia de la adición a la dieta de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la composición corporal de los animales	162
4.33. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la utilización de la proteína dietaria	163
4.34. Influencia de la adición de nutrientes de automultiplicación sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento	164
4.35. Composición en macronutrientes y contenido en Cr ₂ O ₃ de las heces ...	165
4.36. Influencia de la adición de nutrientes de automultiplicación sobre los Coeficientes de Digestibilidad Aparente	165
4.37. Influencia de la adición en la dieta de nutrientes de automultiplicación sobre la composición corporal de los animales	166
4.38. Influencia de la adición de nutrientes de automultiplicación sobre la utilización de la proteína de la dieta	166
4.39. Influencia, sobre el destino de la energía dietaria, de la inclusión de nutrientes de automultiplicación	167
4.40. Influencia de la inclusión de un preparado comercial (nutrientes de automultiplicación, tipo B) sobre el hematocrito, la hemoglobina y la Relación Hepatosomática de los animales	168
4.41. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento	170

4.42. Composición en macronutrientes y contenido en Cr ₂ O ₃ de las heces ...	171
4.43. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes	171
4.44. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la composición corporal de los animales	172
4.45. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de la proteína de la dieta	173
4.46. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre el destino de la energía dietaria	174
4.47. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre el reparto de las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de la dieta	175
4.48. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización digestiva de los macronutrientes y las relaciones P/E de las dietas	176
4.49. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento	177
4.50. Composición en macronutrientes y contenido en Cr ₂ O ₃ de las heces ...	178
4.51. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes de la dieta	179
4.52. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la composición corporal de los animales	179

4.53. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de la proteína dietaria	180
4.54. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre el destino de la energía dietaria	181
4.55. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de la dieta	182
4.56. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización digestiva de los macronutrientes y las relaciones P/E de las dietas	183

1. OBJETO

El cultivo intensivo de peces se caracteriza porque el alimento es proporcionado de forma exógena. En consecuencia, el ajuste de fórmulas-pienso, a las necesidades óptimas de proteína y energía, minimizando costes sin reducir las tasas de crecimiento, es uno de los objetivos de la nutrición de los peces, directamente aplicado al desarrollo de una acuicultura intensiva y rentable. De entre los componentes de la fórmula dietaria, es la proteína, como suma del aporte de aminoácidos esenciales y no esenciales, el nutriente que más condiciona la rentabilidad de un pienso por varias razones: su implicación directa e insustituible en el crecimiento, su elevado porcentaje en la dieta y su alto precio. De hecho, más del 50% de los costes de producción de una piscifactoría están generados por la alimentación.

Las dietas comerciales para peces se han venido caracterizando por contener proporciones variables de harina de pescado en su formulación. La inclusión habitual de este componente está justificada por varios motivos: su alta calidad y contenido proteico, aportando aminoácidos esenciales en proporciones adecuadas, y su aporte lipídico, que incluye ácidos grasos esenciales para muchas especies. Además, una dieta no sólo debe formularse para cubrir las necesidades nutritivas de crecimiento, sino que debe contemplarse el que sea ingerida en cantidades adecuadas, y a este otro aspecto contribuye significativamente la presencia de las harinas de pescado. Todo ello, las ha venido haciendo imprescindibles en la fabricación de dietas. Sin embargo, una progresiva disminución de su disponibilidad, para cubrir las necesidades de una creciente industria piscícola, asociado al auge de la acuicultura mundial, hace temer una disminución de su oferta y un aumento de sus precios. A todo ello se suma la menor rentabilidad y número de los caladeros y un mayor desvío de las especies empleadas, en la fabricación de harinas, hacia consumo humano, lo que ha motivado una cierta preocupación por la dependencia que pueda tener el desarrollo de la acuicultura de la disponibilidad, por otra parte variable, de las harinas de pescado.

La alta calidad proteica de la harina de pescado hace difícil su sustitución por otras fuentes proteicas, en las que se exige, a su vez, que dicho nutriente se encuentre en altas proporciones. La valoración de fuentes proteicas alternativas es estratégicamente un elemento básico para el diseño de dietas que minimicen la inclusión de harina de pescado. Además, la utilización de fuentes proteicas alternativas permitiría obviar el inconveniente que presentan las harinas de pescado, que, por su elevado

contenido en fósforo, contribuyen a la contaminación de aguas, por lo que el control de su eliminación requiere, entre otras cosas, reducir las concentraciones de harina de pescado en las dietas.

Los trabajos existentes acerca del estudio de materias primas, como fuentes de proteína, están enfocados principalmente a la valoración del componente proteico. El principal objetivo de esta Tesis Doctoral es el estudio de la utilización nutritiva de los distintos nutrientes existentes en las materias primas: harina de algodón, harina de altramuza, harina de girasol, gluten de maíz y harina de soja, ya que la utilización de los nutrientes energéticos no proteicos está íntimamente relacionada con el destino nutritivo de la proteína. Para ello, las dietas se han formulado con el criterio de sustituir un 40% de la proteína de harina de pescado por la correspondiente a cada materia prima. Asimismo, para poder valorar la utilización nutritiva de la materia prima, de forma independiente, se han incluido en los ensayos, además de la dieta control formulada con harina de pescado, dos dietas más, formuladas con caseína, como única fuente proteica o sustituyendo en un 40% a la proteína de harina de pescado.

La valoración de la calidad nutritiva de las fuentes proteicas, se ha abordado a distintos niveles. Salvado un primer paso de aceptabilidad de la dieta, la primera condición para establecer la disponibilidad cuantitativa de nutrientes es la utilización digestiva de la proteína y de la energía de la dieta. La cuantificación de dicha utilización digestiva, requiere la recolección de heces con unas características determinadas y por métodos que excluyan, o la incorporación de nutrientes no absorbidos y restos de mucosa intestinal (presión abdominal, disección, etc.), o pérdidas por dilución, al ser recogidas las heces del agua en condiciones que facilitan su fragmentación y dilución. El medio acuático plantea serios problemas a la hora de la determinación del Coeficiente de Digestibilidad de los nutrientes dietarios. La dificultad que conlleva recoger la totalidad de las heces emitidas, obliga a utilizar métodos donde la determinación de la digestibilidad de los nutrientes se realiza de forma indirecta, utilizando marcadores inertes. Existen diversos métodos de recogida de excretas, así como diferentes marcadores. ¿Cuales son simultáneamente más cómodos y fiables?. La prueba de distintas alternativas y su estudio comparado constituye un objetivo más de este trabajo.

En la formulación de dietas se incluyen ingredientes, no nutritivos, que pueden repercutir, de algún modo, sobre la utilización digestiva de los nutrientes. Tal es el caso de los agentes aglutinantes. La evaluación de la posible influencia de tres aglutinantes sobre el uso digestivo de los componentes del alimento es otro de los objetivos de este trabajo.

En peces, la valoración del uso digestivo de la proteína dietaria suele hacerse mediante el cálculo del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la misma. Existen pocos trabajos acerca de la determinación del componente nitrogenado fecal de origen endógeno. En este trabajo se realiza dicha determinación para conocer hasta qué punto se infravalora la utilización digestiva de la proteína de la dieta mediante la determinación de su Coeficiente de Digestibilidad Aparente.

La valoración del rendimiento energético de una dieta, implica la determinación del contenido energético del pez. Dicha determinación se puede realizar de forma directa, mediante combustión en bomba calorimétrica adiabática, o bien basándose en el valor calórico de los componentes estructurales. El primer procedimiento es más preciso, si bien requiere un paso analítico más, que no siempre es posible; por ello, el segundo método es el más frecuentemente utilizado, sin embargo, no existe estandarización para los valores energéticos de la proteína y, sobre todo, la grasa corporal de los peces. En este trabajo se valoran y comparan ambos métodos de evaluación.

Una vez evaluadas, desde el punto de vista digestivo y metabólico, las distintas materias primas, el siguiente bloque de ensayos se diseñó con el fin de tratar de mejorar dicha utilización digestiva y metabólica de aquellas fuentes que lo necesitasen. Ello ha requerido nuevas reformulaciones, con una clara aplicación práctica, tales como, adición de preparados comerciales (KEMZYME, Nutrientes de Automultiplicación), adición de aminoácidos libres, formulación en energía digestible y mezcla de materias primas, planteadas en términos reales de disponibilidad de aminoácidos y energía, con el fin de proporcionar a la maquinaria metabólica del animal la misma cantidad y calidad "teórica" de energía metabolizable. Las consecuencias nutritivas de estas reformulaciones constituyen el objeto último de este trabajo.

2. INFORMACION BIBLIOGRAFICA

2.1. LA ALIMENTACION DE SALMONIDOS

2.1.1. NECESIDADES DE NUTRIENTES

La mayoría de las investigaciones acerca de las necesidades de nutrientes en salmónidos, se han realizado bajo condiciones de laboratorio alimentando a peces jóvenes con dietas purificadas que contienen todos los nutrientes que se sabe requieren los peces, excepto aquel para el que se quieren establecer las necesidades.

2.1.1.1. NECESIDADES DE PROTEINA Y AMINOACIDOS

Las necesidades de proteína para salmónidos varían, principalmente, con la edad, nivel energético de la dieta y balance de aminoácidos. Las necesidades de proteína, estimadas en experimentos con juveniles de trucha arco iris, oscilan entre un 40 a 45% de la dieta. Halver *et al.* (1964), Zeitoun *et al.* (1973), Satia (1974) y Hilton y Slinger (1981) establecen que, en dietas artificiales, el nivel proteico mínimo para un buen crecimiento está normalmente entre el 45 y el 50% para peces juveniles en estado libre, 40 a 45% para adultos en estado libre y 35 a 40% en peces cultivados desde alevines hasta tamaño de comercialización.

En el mismo sentido, otros autores han establecido que los individuos jóvenes necesitan mayor concentración de proteína en la dieta que los de mayor tamaño (Cho *et al.*, 1985; Vergara, 1992). Este efecto se relaciona con la disminución de la capacidad de síntesis proteica corporal a lo largo del desarrollo, que supone una progresiva menor velocidad de crecimiento (Fauconneau, 1985; Houlihan *et al.*, 1986).

En un estudio reciente, Kim *et al.* (1991) reevalúan las necesidades de proteína de juveniles de trucha arco iris, alimentándolas con dietas cuya proteína era aportada por un 2% de gelatina y niveles variables de caseína, suplementada con Arg y Met. El

nivel proteico de las dietas cambió desde un 10 a un 35%, a espensas de una mezcla de aminoácidos no esenciales. Al evaluar el crecimiento de los animales, observaron que éste aumentaba linealmente hasta el nivel de proteína del 25% (dieta con 25% de caseína-gelatina y 10% de aminoácidos no esenciales), produciéndose el punto de inflexión en la curva de crecimiento para el 24% de la proteína dietaria; los valores de crecimiento obtenidos con esta dieta eran similares a los de la que contenía un 35% de proteína, procedente exclusivamente de la mezcla caseína-gelatina. Los autores concluían que un 24% de proteína, aportada por la mezcla de caseína-gelatina, suplementada con Arg y Met, era suficiente para cubrir los niveles de aminoácidos esenciales necesarios para un óptimo crecimiento y que el 16% restante, hasta el 40% de proteína establecido convencionalmente como necesario, se correspondería con la proteína utilizada para cubrir necesidades energéticas.

Debido al hecho de que la proteína es usada por los peces también como fuente de energía, el ajuste de las necesidades de proteína se suele hacer y, por tanto, expresar en términos de energía dietaria. Estimaciones recientes de las necesidades de proteína para la trucha son 22-24 g proteína/MJ energía digestible; estos valores son normalmente aportados por dietas con una energía digestible de 15-17 MJ/Kg (Cho y Woodward, 1989).

Salmón y trucha necesitan diez aminoácidos en su dieta, ya que el resto de aminoácidos necesarios para la síntesis proteica pueden ser sintetizados a partir de restos carbonados del metabolismo intermediario, siempre que el grupo amino esté disponible para incorporarlo a la molécula. Aunque los aminoácidos considerados esenciales para salmón y trucha son los mismos, se ha visto que, a nivel cuantitativo, las necesidades presentan marcadas diferencias entre ambos, especialmente en lo que se refiere a los azufrados y Arg (Lovell, 1989) (Tabla 2.1).

Ogino (1980) estimó las necesidades de aminoácidos, para la trucha arco iris joven, en fase de crecimiento y alimentanda con proteína de alta calidad, midiendo diariamente la retención de aminoácidos esenciales individuales en el cuerpo del animal. Según Cho y Cowey (1991), este método parece asumir que las necesidades de

Tabla 2.1 Necesidades cuantitativas de aminoácidos para el salmón chinook y la trucha arco iris.

	Salmón		Trucha	
	% proteína	% dieta (40% proteína)	% proteína	% dieta (40% proteína)
Arginina	6.0	2.4	3.5	1.4
Histidina	1.8	0.7	1.6	0.6
Isoleucina	2.2	0.9	2.4	1.0
Leucina	3.9	1.6	4.4	1.8
Lisina	5.0	2.0	5.3	2.1
Metionina	4.0 ¹	1.6 ¹	1.8 ³	0.7 ³
Fenilalanina	5.1 ²	2.1 ²	3.1 ⁴	1.2 ⁴
Treonina	2.2	0.9	3.4	1.4
Triptófano	0.5	0.2	0.5	0.2
Valina	3.2	1.3	3.1	1.2

¹ En ausencia de Cys, que puede sustituir aproximadamente 1/3 de las necesidades de Met.

² En ausencia de Tyr, que puede sustituir parte de los requerimientos de Phe.

³ En presencia de 0.4% de Cys.

⁴ En presencia de 0.8% de Tyr.

Necesidades para salmón (NRC, 1981), necesidades para trucha (Ogino, 1980).

mantenimiento de la trucha joven en fase de crecimiento son muy bajas (lo cual no sería fácil de conciliar con el hecho de que sólo del 30 al 40% del nitrógeno dietario sea retenido por el animal para crecer) y por tanto que la vía de deposición de aminoácidos como ganancia de peso es el principal factor que determina las necesidades de éstos. Un aspecto que ha de considerarse cuando se trata de ajustar el contenido en aminoácidos de una dieta a las necesidades de una especie, es la capacidad de algunos aminoácidos esenciales de ser sustituidos parcialmente por otros no esenciales. Este es el caso de las parejas metionina-cistina y fenilalanina-tirosina. La posibilidad de

sustitución de metionina por cistina, en términos equimoleculares de azufre, es de hasta un 60% en el bagre (Harding *et al.*, 1977), del 58% en trucha arco iris (Kim *et al.*, 1992a), del 50% en salmón (NRC, 1983) y tilapia (Santiago y Lovell, 1988), del 40% en *Sciaenops ocellatus* (Moon y Gatlin, 1991) y de un 43.5% para la lubina (Thebault, 1983). La esencialidad de la fenilalanina puede sustituirse parcialmente por tirosina hasta en un 50% en el bagre (Robinson *et al.*, 1980), 40 - 50% en tilapia (Santiago y Lovell, 1988), 46% en *Chanos chanos* (Borlongan, 1992) y un 40% en *Catla catla* (Ravi y Devaraj, 1991).

En otros animales se ha evidenciado la posible existencia de interacciones entre lisina y arginina (Austic y Calvert, 1981; Baker y Czarnecki-Maulden, 1991) y entre leucina, isoleucina y valina (Harper *et al.*, 1984). Aunque en algunos peces como el bagre (Robinson *et al.*, 1981) o la trucha arco iris (Kim *et al.*, 1983) no se había evidenciado la interacción Lys-Arg, investigaciones posteriores (Kaushik y Fauconneau, 1984) parecen aportar evidencias bioquímicas de la existencia, en la trucha arco iris, de una inhibición del catabolismo de la arginina y de la excreción de urea con niveles del 3% de lisina en la dieta, en comparación con unas concentraciones del 0.8 y 1.8%. Posteriormente, Kim *et al.* (1992b) no observaron efectos de la concentración de lisina en la dieta (1.5 y 3%) sobre la utilización de la arginina. Por tanto, queda pendiente la demostración experimental de una acción inhibitoria de la lisina sobre el catabolismo de la arginina y, en consecuencia, la posibilidad de un efecto de "ahorro" de arginina.

En cuanto al antagonismo Leu - Ile - Val, los primeros autores que lo evidenciaron en peces fueron Chance *et al.* (1964), que establecieron unas necesidades de 1.6% de Leu y 1.3% de Val en la dieta para el salmón, *Oncorhynchus tshawytscha*. Asimismo, estos autores indicaron que las necesidades de isoleucina dependían de la concentración de leucina en la dieta: 0.9% para 1.5% de Leu, 1% para 3.68% de Leu y 1.1% para un 6% de Leu, produciéndose una reducción en la ganancia de peso por un exceso de isoleucina en dietas subóptimas en leucina. Los autores concluyeron, además, que las necesidades de Ile y Val aumentaban con concentraciones altas de Leu en la dieta. En la trucha de lago, *Salvelinus namaycush*, Hughes y Rumsey (1983) observaron que los animales alimentados con una dieta baja en isoleucina tenían un

menor contenido proteico y mayor contenido graso que las alimentadas con dietas que contenían un nivel bajo de leucina. Estos autores concluían que, de los aminoácidos Leu-Ile-Val, era la isoleucina el primer aminoácido limitante que facilitaba la síntesis proteica y que la leucina, en altas concentraciones, deprimía, por inhibición competitiva, el transporte a los tejidos, o la absorción y reabsorción intestinal de isoleucina, o facilita su catablismo tras la absorción (Harper *et al.*, 1970).

2.1.1.2. NECESIDADES DE ACIDOS GRASOS

Salmón y trucha requieren aproximadamente un 1 a 2% de ácidos grasos ω -3 en la dieta para prevenir signos de deficiencia en ácidos grasos esenciales (Castell, 1979; Watanabe, 1982).

Las evidencias experimentales, indican que los requerimientos de ácidos grasos esenciales de la trucha pueden ser completamente cubiertos por la adición de ácidos grasos ω -3 en la dieta. Watanabe *et al.* (1974) encontraron que se requiere un 0.8% de 18:3 ω -3 para un crecimiento óptimo; estos valores fueron establecidos más tarde como el 20% de los lípidos dietarios cuando se trata del linolénico (18:3 ω -3) o el 10% de los lípidos dietarios como 20:5 ω -3 o 22:6 ω -3 (Takeuchi y Watanabe, 1977).

Sin embargo, y aunque no existen datos que lo cercioren, existe la posibilidad de que la trucha arco iris tenga unos pequeños, pero significativos, requerimientos de ácidos grasos ω -6 (Cho y Cowey, 1991).

Aunque, como ya se ha indicado, los ácidos grasos ω -3 de la familia del linolénico, incluidos los HUFA ω -3, tienen un excelente efecto en la mejora del crecimiento en la trucha, sin embargo, se ha visto que un exceso de éstos tiene un efecto negativo sobre esta especie; así, la adición, a la dieta de truchas arco iris, de cantidades de 18:3 ω -3, o una mezcla de 20:5 ω -3 y 22:6 ω -3, que excedían cuatro veces a las necesidades de los animales, provocaba un mal crecimiento y peores índices de conversión del alimento (Takeuchi y Watanabe, 1979). Asimismo, se ha comprobado

que niveles superiores al 1% de 18:2 ω -6, en la dieta de truchas arco iris, deprimen el crecimiento (Yu y Sinnhuber, 1976). Los mismos autores (1979) comprobaron que niveles superiores al 1% de ácidos grasos ω -6, o niveles extremadamente altos de ω -3, deprimían el crecimiento del salmón coho.

2.1.1.3. NECESIDADES DE HIDRATOS DE CARBONO

Tradicionalmente, el uso de los hidratos de carbono en las dietas para peces se ha considerado limitado, debido a una aparente incapacidad de estos animales para utilizar estos macronutrientes.

Phillips *et al.* (1948) consideraban que los piensos para trucha no deberían contener más de un 12% de hidratos de carbono digestibles, encontrando, en caso de ser incluidos en mayor proporción, un crecimiento más lento, acúmulo de glucógeno hepático y elevada mortalidad. Esto podría estar motivado por un inadecuado equilibrio entre los nutrientes de la dieta, si bien se reconoce una incapacidad de los peces para controlar la glucemia (Palmer y Ryman, 1972; Cowey y Sargent, 1979) derivada de un déficit metabólico para la utilización de la glucosa y de una capacidad reducida para digerir las fuentes más usuales de carbohidratos.

Cuando se plantea la necesidad de un ahorro de proteína en las fórmulas dietarias, de cara a una piscicultura intensiva, se retoma el estudio del posible papel de los hidratos de carbono como fuente de energía en los peces, surgiendo una serie de trabajos que ponen de manifiesto la capacidad de salmónidos y otros peces para usar determinados niveles y tipos de hidratos de carbono, con el consecuente mejor aprovechamiento de la proteína para crecimiento.

Así, Luquet (1971) incorporó hasta un 50% de almidón crudo en la dieta de truchas sin que el crecimiento se viera afectado negativamente. Tiews *et al.* (1979) y Pieper y Pfeffer (1979) encontraron que la trucha podía utilizar el almidón pre-cocido o gelatinizado, sacarosa y glucosa, incorporados a dietas experimentales. En esta misma

especie Bergot (1979 a,b) encontró que hasta un 30% de la glucosa de la dieta era utilizada para cubrir demandas energéticas.

Se ha puesto de manifiesto que, cuando el nivel de glúcidos dietarios es alto, se usan mejor los glúcidos complejos que los mono- y disacáridos. Así, Edwards *et al.* (1977) y Austreng *et al.* (1977) encuentran un uso preferencial del almidón, respecto a la sacarosa, para promover ahorro de proteína y mejora de crecimiento en salmónidos. También en la carpa se ha encontrado una mejor utilización del almidón que de la dextrina y la glucosa (Furuichi y Yone, 1982).

Por otra parte, la digestibilidad de los hidratos de carbono está inversamente relacionada con su tamaño molecular (Singh y Nose, 1967; Phillips, 1970; Smith, 1971). Asimismo, también depende de su origen vegetal y del tratamiento al que haya sido sometido. En este sentido, Kaushik y Oliva Teles (1985) encuentran que los resultados obtenidos, en cuanto a crecimiento y aprovechamiento de la proteína, al alimentar truchas arco iris con una dieta que incluía un 30% de almidón gelatinizado eran mejores que con almidón crudo. Resultados similares se encontraron en esta especie cuando el nivel de almidón o cereales extrusionados fue de un 38% de la dieta (Kaushik *et al.*, 1989) observándose una mejora de la digestibilidad de la energía (85%) frente a la obtenida con las dietas que incluían almidón crudo (64%). Boccignone *et al.* (1989) en trucha y Jeong *et al.* (1989) en trucha y carpa también encuentran un mejor uso del almidón extrusionado.

En general, en el campo de la utilización que de los glúcidos hacen los peces, quizás el punto más destacable sea la dificultad que representa el establecer conclusiones precisas y claras ya que aún existen demasiadas incógnitas y sería necesario establecer el nivel óptimo de incorporación de hidratos de carbono a la dieta para cada rango de edad/peso y para cada especie (Zamora y Echevarría, 1987), aunque cada vez parece más importante el papel que pueden ejercer los hidratos de carbono ahorrando proteína para crecimiento y aumentando la disponibilidad de la energía dietaria (Kaushik *et al.*, 1989, Kim y Kaushik, 1992).

2.1.1.4. NECESIDADES DE ENERGIA

Los peces necesitan la energía dietaria para mantener sus procesos vitales y para producir nuevos tejidos, lo que constituye la base del crecimiento y la reproducción. Las necesidades cuantitativas y cualitativas de energía varían con la temperatura del agua, la especie, el tamaño, la edad, las actividades físicas y fisiológicas, la composición de la dieta, etc.

Las necesidades energéticas son cubiertas por todos los componentes energógenos de la dieta (proteína, grasa y carbohidratos). El destino de la energía más importante es el mantenimiento de los procesos vitales, ya que en el caso de que la dieta no proporcione la energía suficiente para cubrir esas necesidades, se catabolizarán los tejidos corporales.

Según datos de Cho *et al.* (1982), Cho y Kaushik (1985) y Cho y Watanabe (1986), la energía necesaria para producir un Kg de biomasa de trucha sería 19.9 MJ, siendo el reparto de esta energía: 5 MJ de pérdidas de energía en heces, 0.8 MJ de pérdidas branquiales y urinarias, 4.4 MJ de energía para mantenimiento, 1.7 MJ de energía calorífica para los procesos de utilización de los nutrientes para mantenimiento de los procesos vitales y crecimiento y 8 MJ de energía retenida en el cuerpo (300 g de sustancia seca/Kg de biomasa de los cuales 165 g son proteína, 105 g grasa y 30 g cenizas). Según Cho (1983) y Cho y Kaushik (1990), los niveles recomendados de energía en las dietas para salmónidos son: 17-20 MJ de energía bruta, 14-17 MJ de energía digestible y 13-16 MJ de energía metabolizable, por Kg de dieta.

Trucha y salmón utilizan muy bien la proteína dietaria y los lípidos para obtención de energía. Los carbohidratos complejos, como el almidón, no son bien digeridos por la trucha (Spannhof y Platikow, 1983), pero se ha encontrado que los tratamientos tecnológicos como la gelatinización mejoran su digestibilidad (Bergot y Bréque, 1983), así como la digestibilidad de la energía dietaria (Kaushik *et al.*, 1989), convirtiéndose en fuentes energéticas tan eficientes como la proteína y la grasa (Pieper y Pfeffer, 1980 a,b).

Los lípidos son generalmente una fuente de energía menos costosa para salmónidos que la proteína y los carbohidratos, cuando se comparan en base a la energía metabolizable que proporcionan. En una dieta con un 35 a 40% de proteína, equilibrada en cuanto al balance de aminoácidos, la relación óptima P/E para alevines de trucha es proporcionada por un 15 a 20% de lípidos (Watanabe *et al.*, 1979).

2.1.1.5. NECESIDADES DE VITAMINAS Y MINERALES

Trucha y salmón necesitan 15 vitaminas en su dieta para asegurar un buen crecimiento en condiciones óptimas de salud. No se han establecido las necesidades cuantitativas de vitaminas dietarias para salmónidos de distintos tamaños, en medio natural, pero sí se ha hecho con animales jóvenes alimentados con dietas semipurificadas y mantenidos en el laboratorio (Castledine *et al.*, 1978; NRC, 1981).

Se han descrito signos característicos de deficiencias vitamínicas con pequeños salmónidos en un medio controlado, mostrándose efectiva, en la prevención de esos signos de deficiencia, la suplementación de dietas artificiales con cantidades de vitaminas que aseguren los niveles óptimos de las mismas después del granulado y el almacenaje (Hardy, 1989). En el caso de algunas vitaminas, como el ácido ascórbico, se añaden cantidades bastante superiores a las requeridas, debido a que esta vitamina es muy susceptible de oxidación.

Algunos de los primeros estudios acerca de las necesidades de vitaminas por los peces indicaban que eran mayores que en mamíferos, aunque estudios más recientes, realizados con truchas en fase de crecimiento rápido, han dado valores similares a los obtenidos para mamíferos.

En cuanto a los minerales, durante muchos años se pensó que los peces obtenían una gran proporción de sus necesidades de minerales directamente del agua en la que vivían. En el caso de minerales que están presentes en una elevada concentración en forma disuelta, como el calcio, el agua puede hacer una contribución significativa a esas

necesidades pero, en la mayoría de los casos, los minerales deben estar presentes en las dietas para prevenir deficiencias (Lall, 1979).

Muchas dietas artificiales que contienen una elevada proporción de harina de pescado, tienen un nivel suficiente de elementos esenciales para cubrir las necesidades de trucha y salmón en crecimiento. Algunos componentes dietarios, como el ácido fítico de semillas de plantas y la harina de pescado con alto contenido en cenizas, pueden reducir la disponibilidad de algunos cationes divalentes y causar problemas de deficiencias; por ejemplo, dietas con altos niveles de harinas de pescado o soja, deberían ser suplementadas con Zn (Hardy, 1989).

2.1.2. INGREDIENTES COMUNMENTE USADOS EN LAS DIETAS PARA SALMONIDOS

Los ingredientes usados en las dietas para salmónidos pueden clasificarse como fuentes de proteína (aminoácidos); fuentes de lípidos (ácidos grasos); fuentes de hidratos de carbono; suplementos vitamínicos; suplementos minerales; ingredientes especiales para mejorar el crecimiento, pigmentación o desarrollo sexual del pez y para mejorar las propiedades físicas y palatabilidad del alimento, así como la preservación del mismo.

Fuentes de proteína

La fuente de proteína mayoritariamente usada en las dietas para peces es la harina de pescado, debido sobre todo a su alta palatabilidad y a su excelente patrón aminoacídico. También es fuente de nutrientes esenciales como minerales y ácidos grasos ω -3.

La soja se puede considerar la segunda fuente de proteína dado que su uso en las dietas para peces está muy extendido, presentando uno de los mejores patrones

aminoacídicos respecto al resto de las fuentes proteicas vegetales. No obstante, en algunas especies se presentan problemas de palatabilidad.

Hay otra serie de materias primas, sobre todo vegetales, que hasta ahora se han utilizado en bajas proporciones como fuente de proteína en las dietas para peces con mayor o menor éxito. Debido al tema concreto de este trabajo, mas adelante se tratarán en profundidad estos aspectos.

Fuentes de lípidos

Aparte de la grasa aportada por las materias primas usadas como fuente de proteína (harina de pescado, harinas vegetales), se suelen añadir aceites para alcanzar los niveles deseados de lípidos como aporte de energía y ácidos grasos esenciales. Generalmente se usan mezclas de aceites de origen animal y vegetal, que cubren, respectivamente, las necesidades de ácidos grasos ω -3 y ω -6.

Fuentes de vitaminas y minerales

Generalmente, y aunque las materias primas usadas como fuente de proteína también aportan minerales y vitaminas a la dieta, se suelen añadir suplementos minerales y vitamínicos, en forma purificada, para cubrir las necesidades del animal.

Ingredientes especiales

Hay una serie de ingredientes que se añaden a las dietas para peces con el fin de mejorar la calidad final del producto de cara a su comercialización. Este es el caso de la suplementación con pigmentos, que confieren al pez un color determinado, o de la suplementación con un exceso de vitamina E, que hace que disminuya la formación de peróxidos, por oxidación de los lípidos dietarios, que son tóxicos para los peces.

Tabla 2.2. Concentración de nutrientes recomendada en dietas de producción para la trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, por Kg de dieta (NRC, 1991).

Energía digestible	15 MJ
Proteína bruta	400 g
Proteína digestible	350-380 g
Proteína digestible/energía digestible	22-25 g/MJ
Aminoácidos (para un 34% proteína bruta)	
Arginina	1.5 g
Leucina	1.4 g
Lisina	1.8 g
Metionina (en presencia de cistina)	1.0 g
Triptófano	0.2 g
Ácidos grasos esenciales (para 20% lípidos)	
18:3 ω -3	8-17 g
Vitaminas	
Vitamina C	50 mg
Colina	3000 mg
Inositol	200 mg
Biotina	0.15 mg
Folatos	5 mg
Niacina	10 mg
Ácido pantoténico	12 mg
Riboflavina	4 mg
Tiamina	1.5 mg
Vitamina B ₆	3.0 mg
Vitamina B ₁₂	0.015 mg
Vitamina A	2000 UI
Vitamina D	2400 UI
Vitamina E	50 mg
Vitamina K	10 mg
Minerales	
Calcio	ND ^a
Fósforo	6 g
Sodio	ND
Potasio	ND
Magnesio	0.5 g
Manganeso	20 mg
Zinc	30 mg
Hierro	60 mg
Cobre	5 mg
Iodo	ND
Selenio	0.3 mg

^a No determinado exactamente.

En otros casos, se añaden a la dieta una serie de ingredientes para mejorar algunas propiedades cualitativas de ésta, como es el caso de los saborizantes, que hacen la dieta mas palatable para el animal.

Otros ingredientes habituales son los agentes aglutinantes, que confieren a la dieta una mayor estabilidad en el agua y que, en nuestro caso, tienen un especial interés debido a que se ha descrito cierto efecto de los mismos sobre la digestibilidad de los nutrientes dietarios (Roselund y Utne, 1981; Storebakken, 1985; Storebakken y Austreng, 1987). Los aglutinantes normalmente utilizados son los hidrocoloides orgánicos, tales como goma arábica, agar, ácido algínico y carboximetilcelulosa. También hay una serie de aglutinantes usados comunmente en dietas para animales de granja, hemicelulosas, molasas y sulfonatos de lignina, que pueden ser utilizados en las dietas para peces, pero su efectividad para mantener la estabilidad de la dieta en el agua durante varias horas ha sido inconsistente. Aparte de estos ingredientes específicos, también tienen efecto aglutinante los almidones cocidos, que además son fuente de energía.

2.1.3. FUENTES PROTEICAS UTILIZADAS EN LAS DIETAS PARA SALMONIDOS

Los gastos de alimentación son los que más van a influir sobre los costes totales de producción de un cultivo intensivo de peces; según la FAO (1983) representan entre el 40 y 60% de los gastos totales. Por otra parte, el componente proteico de los piensos es el que más afecta al costo total de la fórmula dietaria para salmónidos. De lo anterior se puede deducir que el estudio de la nutrición proteica y, más concretamente, la búsqueda de fuentes de proteína de alta calidad y bajo precio presenta un indudable interés de cara a su aplicación en piscicultura.

2.1.3.1. LA PROBLEMATICA DE LA HARINA DE PESCADO

Tradicionalmente, la mayor parte del aporte proteico en los piensos para peces

ha sido cubierto por la harina de pescado. Los niveles de inclusión en las dietas para salmónidos oscilan entre el 20 y el 60% (Murai, 1992).

Hay una serie de factores que hacen de la harina de pescado una fuente de proteína de excelente calidad nutritiva, y que, según De la Higuera y Cardenete (1987), se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Elevado contenido proteico (normalmente superior a un 60% sobre materia seca)
- Proteína muy digestible (Coeficientes de Digestibilidad Aparente superiores al 80%)
- Gran equilibrio en cuanto a su composición en aminoácidos.
- Buena fuente de ácidos grasos esenciales, sobre todo poliinsaturados.
- Alto contenido en vitaminas del grupo B.
- Elevadas proporciones de ácido fosfórico y fosfatos asimilables.
- Buena palatabilidad para los peces.
- Posible existencia de un factor de crecimiento no identificado (posiblemente de tipo hormonal), aunque es difícil asegurar que produzca un efecto anabólico significativo (Kaushik, 1990).

La demanda de esta materia prima se concentraba hace unos años en los países productores de carne (aves y cerdos), donde entra a formar parte importante de los piensos de engorde; el desarrollo de la acuicultura ha supuesto una nueva vía de utilización de esta materia prima, en especial de las harinas de alta calidad. Se estima que la producción de 1 Kg de pez carnívoro o crustáceo en piscifactoría precisa de 3 Kg de otros peces utilizados como alimento, mediante la elaboración de harina. Estos peces, en principio, no eran directamente consumibles por los humanos, por lo que su empleo en acuicultura no necesariamente limitaba la disponibilidad de pescado para el hombre. Sin embargo, la creciente demanda de harina de pescado puede redirigir las capturas hacia especies que sí son utilizadas en este sentido y lo que es peor, hacia los juveniles de las mismas. Asimismo, las mejoras tecnológicas en el procesado del pescado han hecho posible el consumo, por parte del hombre, de especies de peces previamente consideradas como inaceptables y que eran convertidas en harina de pescado. En definitiva, la creciente demanda de esta harina por las actividades

acuícolas, junto con la mayor proporción de pescado utilizado para alimento por el hombre, repercuten negativamente sobre la disponibilidad y costo de la harina de pescado.

Hasta comienzos de los años sesenta las harinas de pescado mantuvieron en el mercado calidades altas, buena disponibilidad y precios muy competitivos; sin embargo, la coincidencia de una serie de factores desató una crisis en el sector, con un aumento espectacular de los precios, que disparó los costes de los piensos e hizo cundir la alarma entre las empresas dedicadas a la piscicultura. Entre estos factores se encuentra la crisis del petróleo, que aumentó los costes de pesca y procesado, las restricciones impuestas por algunos países a la pesca en sus aguas y el progresivo agotamiento de los caladeros habituales, que ha hecho que disminuya el volumen de capturas, y las alteraciones en el régimen de algunas corrientes oceánicas, que produjeron un efecto devastador sobre los bancos de anchoveta peruana.

De la producción total de harinas de pescado, más del 10% es utilizado en la fabricación de piensos para acuicultura; en 1988 más de 650.000 Tm se utilizaron en la elaboración de dietas para acuicultura intensiva o semi-intensiva (Pike *et al.*, 1990).

La producción de harinas de pescado ha descendido lentamente durante los últimos años y aún se supone que descenderá al menos un 5% durante la próxima década (la producción actual está en torno a los 6.1 millones de Tm, según datos del Banco Mundial) y ésto, unido al hecho de que se ha previsto que la demanda para piensos en acuicultura se duplique hacia finales de siglo, con lo que supondrá del 20 al 25% de la producción total de harina (Pike *et al.*, 1990), ha planteado la necesidad de utilizar otras fuentes de proteína que desliguen al sector de la dependencia de las harinas de pescado y que, sin afectar a la calidad nutritiva, permitan fórmulas-pienso más abiertas y de precio más estable.

2.1.3.2. FUENTES PROTEICAS ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO

En el capítulo de la investigación en nutrición piscícola se han seguido los mismos pasos que ya se dieron con los organismos terrestres, de manera que, conforme ha ido aumentando tanto el número de especies potencialmente cultivables como el volumen de los cultivos y, por tanto, la demanda de piensos, gran parte de la investigación se ha dedicado a la evaluación de fuentes proteicas que sirvan como alternativas a la harina de pescado.

Al margen de las consideraciones puramente nutricionales, existen dos factores a tener en cuenta a la hora de utilizar fuentes proteicas alternativas a la harina de pescado: la continuidad en el suministro y el precio. No obstante, y aunque lo deseable sería que las nuevas fuentes de proteína tuvieran al menos el mismo precio que la harina de pescado, el abaratamiento de los precios puede quedar como un objetivo secundario si se consigue la continuidad en el suministro.

Por otra parte, hay que distinguir que la necesidad de hallar fuentes proteicas no es tan acuciante en países en vías de desarrollo, donde las explotaciones predominantes se llevan a cabo en régimen extensivo o semi-intensivo, con especies omnívoras o herbívoras. El problema real se plantea en los países desarrollados donde predominan las explotaciones intensivas de especies mayoritariamente carnívoras y, por consiguiente, con elevadas necesidades proteicas.

Entre los criterios a considerar, de cara a la elección de una materia prima como fuente proteica, cabría destacar, según De la Higuera y Cardenete (1987), los siguientes:

- Contenido proteico elevado que permita una sustitución sustancial de la harina de pescado, sin afectar a los niveles de inclusión del resto de componentes de la dieta.
- Calidad nutritiva de la proteína, sobre todo en lo relativo a la composición en aminoácidos esenciales y digestibilidad.

- Posible presencia de factores antinutritivos en la materia prima a evaluar y estudio de un posible método para su eliminación.

No obstante, cualquier fuente proteica, salvo excepciones de concentrados proteicos, aporta a la dieta otros nutrientes al margen de la propia proteína y, por tanto, se requiere una evaluación global de la materia prima y no centrarse exclusivamente en la evaluación de su calidad proteica.

Las fuentes de proteína susceptibles de ser usadas como alternativas a la harina de pescado son:

- Proteínas de origen animal que comprenden entre otras: desperdicios de matadero, ensilados de peces, derivados lácteos y algunas proteínas menos convencionales como las de harina de krill, lombriz y oligoquetos.
- Proteínas de origen vegetal, donde se incluyen una amplia gama de harinas de semillas vegetales.
- Proteínas de organismos unicelulares, entre las que se encuentran algunas levaduras, algas y bacterias.
- Fuentes de nitrógeno no proteico, como la urea o el ácido úrico.

2.1.3.2.1. FUENTES PROTEICAS DE ORIGEN ANIMAL

Están compuestas normalmente por subproductos de distintas industrias y son inutilizables para consumo humano, por lo que sus precios son altamente competitivos con los de otras proteínas más convencionales. Generalmente se emplean como fuentes de proteína secundarias y rara vez se incluyen, en los piensos comerciales, a niveles superiores al 20% (Murai, 1992).

Entre estas materias primas se encuentran los desperdicios de matadero, que comprenden hidrolizados de plumas, harinas de sangre, harinas de restos de la industria avícola, harinas de carne y huesos, etc. Aunque su contenido en proteína suele ser alto,

algunas de estas harinas presentan baja digestibilidad y deficiencias en aminoácidos esenciales como lisina, metionina y triptófano.

También se han utilizado con éxito los ensilados de peces, conservados en forma semilíquida mediante la adición de ácidos (Asgard y Austreng, 1985a; Tacon y Jackson, 1985).

Por otra parte, los derivados lácteos (lactosueros y caseína) se han empleado en bajas proporciones en dietas prácticas para peces; hasta un 10% el primero (Rumsey *et al.*, 1981) y hasta el 20% el segundo en dietas húmedas para salmones (Asgard y Austreng, 1985b).

Dentro de este apartado también se encuentran una serie de proteínas menos convencionales entre las que cabría destacar las harinas de krill, de lombriz y de oligoquetos.

La harina de Krill, aunque ha dado excelentes resultados como ingrediente de dietas para peces (Steffens y Albretch, 1982; Akiyama *et al.*, 1984; Shimizu *et al.*, 1990) presenta, junto a su alto precio, el mismo problema que la harina de pescado, en cuanto a su dependencia del medio natural y de la pesca.

La harina de lumbrícidos, como subproducto excedente de instalaciones de lumbricultura para producción de humus, ha dado resultados muy dispares, sobre todo porque algunas especies, como es el caso de *Eisenia foetida*, no son bien aceptadas por los peces (Hilton, 1983; Tacon *et al.*, 1983a; Cardenete *et al.*, 1991). No obstante, en experimentos donde la harina de lombriz se incluyó a bajos niveles, pareció ser bien tolerada y promovió un buen crecimiento en trucha arco iris y salmón (Akijama *et al.*, 1984; Stafford y Tacon, 1985). Los principales problemas que plantea el uso de esta fuente proteica son el volumen de producción y la continuidad en el suministro.

La harina de oligoquetos, si bien ha dado resultados prometedores en el cultivo de alevines (Bouguenec, 1992), presenta los mismos problemas que los mencionados

para la harina de lombriz.

2.1.3.2.1.1. LA CASEINA

La caseína es una de las fracciones proteicas de la leche. En una leche normal el contenido medio de proteínas es de 30-35 g/l; casi el 80% de esta proteína se encuentra bajo la forma de complejos macromoleculares (micelas) que contienen una parte mineral, fundamentalmente fosfato cálcico. La fracción proteica de caseína esta presente fundamentalmente en esta forma, y contiene hasta un 8% de minerales (Ribadeau-Dumas, 1981). En general, son proteínas ácidas por ser ricas en ácido glutámico y aspártico. Los análisis de caseína aportados por algunos autores (Eggum, 1968; Ogino y Nanri, 1980; NRC, 1981) difieren en algunos aspectos, pero indican que la cantidad de aminoácidos esenciales en la proteína de caseína es generalmente elevada. Comparada con las necesidades de salmón y trucha, la composición en aminoácidos está bastante bien balanceada, pero el contenido en arginina y metionina+cistina puede ser bajo en algunos casos (Asgard y Austreng, 1985b).

La producción mundial de caseína aumentó desde algunas Tm en torno al año 1900 (Tague, 1926) hasta 181.000 Tm en 1981, siendo Nueva Zelanda el mayor productor (GATT, 1983).

Algunos autores han estudiado el efecto de la inclusión de caseína seca en la dieta, sobre el crecimiento de la trucha arco iris, comparándola con otras fuentes de proteína normalmente utilizadas. Nose (1971) encontró que los peces crecían igual de bien si el nitrógeno absorbido procedía de caseína o de harina de pescado y aún más que con un suplemento de soja. Pfeffer *et al.*, (1980) no encontraron diferencias en crecimiento, composición química y supervivencia de truchas arco iris alimentadas con una dieta en la que se sustituyeron dos tercios de la proteína de harina de pescado por proteína de caseína. Sin embargo, cuando la caseína sustituía totalmente a la harina de pescado, esta última daba mejores resultados.

Rumsey y Ketola (1975), comparando caseína y harina de pescado en una dieta para salmón atlántico, encontraron un mayor crecimiento y una mayor tasa de supervivencia con la harina de pescado. Estas diferencias no se observaron cuando la dieta con caseína se suplementó con Arg, Cys, Lys, Met, Thr y Trp, hasta alcanzar los mismos niveles que en la harina de pescado. Petrasch y Pfeffer (1982), comparan la caseína con la harina de krill, encontrando que esta última promovía mayor crecimiento. Nose (1963) mejoró los resultados de una dieta con caseína-gelatina como única fuente de proteína, añadiendo Met y Trp. Ogino y Nanri (1980) consiguieron mejoras similares añadiendo aminoácidos.

Kellems y Sinnhuber (1982) compararon una mezcla de caseína-gelatina con un concentrado proteico de pescado. La dieta con caseína promovió un menor incremento de peso y una menor utilización de la energía dietaria cuando un 30% de la energía metabolizable era aportada por la proteína, concluyendo que la caseína era una peor fuente de proteína que el concentrado proteico de pescado. Comparando con una mezcla de subproductos de pollo (sangre, plumas y desperdicios de matadero), Schulz *et al.* (1982) obtubieron mejores resultados de crecimiento con una mezcla de caseína-gelatina.

Asgard y Austreng (1985b), estudiando el efecto de la inclusión de caseína en la dieta de trucha arco iris y salmón, sustituyendo parcial o totalmente a la harina de pescado, obtuvieron resultados muy satisfactorios en cuanto a crecimiento y estado de salud y composición corporal de los animales y similares a los obtenidos con una dieta control de harina de pescado. Asimismo obtuvieron unos elevados valores de digestibilidad de la caseína (95 a 98%)

2.1.3.2.2. FUENTES PROTEICAS DE ORIGEN VEGETAL

Estas materias primas están adquiriendo cada vez más importancia en la fabricación de piensos para peces. Frente a la harina de pescado, presentan la ventaja de su mayor producción y de ser normalmente subproductos agroindustriales, con lo que

su precio puede llegar a ser muy competitivo.

En general, las harinas de origen vegetal se consideran de peor calidad que la harina de pescado por su inferior contenido en proteína y en determinados aminoácidos esenciales y por su menor digestibilidad, fundamentalmente del componente hidrocarbonado. No obstante, y como se verá más adelante, los procesos tecnológicos a los que pueden someterse estas materias primas y la posibilidad de complementación con otras proteínas o aminoácidos, pueden llegar a mejorar su utilización nutritiva considerablemente.

Las materias primas vegetales con más posibilidades de llegar a sustituir de forma importante a la harina de pescado son las harinas de leguminosas, las tortas de oleaginosas y los concentrados proteicos. No obstante, Murai (1992) indica que si estas materias primas se incluyen en la dieta como aporte proteico primario (del 25 al 50% de la proteína de la dieta) los crecimientos suelen resentirse.

En general, las materias primas vegetales hasta ahora utilizadas, en mayor o menor grado, han sido la harina de soja (la más estudiada y utilizada en piensos para peces), harinas de variedades dulces de altramuz, variedades de la colza con bajos niveles de glucosinolatos, harina de semilla de algodón, harina de semilla de girasol y concentrados proteicos de soja, hojas de alfalfa, plantas de centeno, patata y gluten de maíz.

2.1.3.2.2.1. LA HARINA DE ALGODON

El algodón pertenece al género *Gossypium* de la Familia de las Malvaceas. Es originario de diversas zonas del mundo que incluyen Africa, Arabia, India, Australia y América Central. La especie más usual en España es *G. herbaceum*, y los datos disponibles en cuanto a producción total en nuestro país indican que, si bien en el periodo comprendido entre los años 1985 y 1991 hubo un aumento de la producción, cifrándose ésta en 258.7 miles de Tm en el año 1991, en el último año se ha producido

un descenso, siendo la producción en 1992 de 214.6 miles Tm (BIAP, 1992a). Este descenso ha sido motivado por la persistente sequía de los últimos años.

La semilla de algodón consta de dos partes diferenciadas: la corteza, de donde se obtiene la fibra de algodón, y el embrión de donde se obtienen el aceite y la harina.

Dentro del embrión es importante destacar la presencia de unos gránulos oscuros, que son las glándulas pigmentarias (características de todas las especies del género *Gossypium*). La mayoría de los pigmentos coloreados de la semilla se encuentran en estas estructuras, de los cuales el principal es el gopisol que puede representar del 20 al 40% del peso total de la glándula.

La composición en macronutrientes de la harina de algodón puede variar dependiendo de la especie y del procesado al que haya sido sometida la semilla, pero, en general, la composición media está en torno a un 7% de humedad, 1-5% de grasa, 35-42% de proteína, 26% de MELN, 7-12% de fibra bruta y 5-7% de cenizas.

En cuanto a la composición de sus macronutrientes podemos decir que la harina de algodón muestra ciertas deficiencias en lisina y metionina. Es rica en linoleico (aprox. 50% de los ácidos grasos), oleico (23%) y palmítico (23%), y tiene pequeñas cantidades de esteárico y palmitoleico. El componente hidrocarbonado contiene un 5.3% de azúcares sencillos, 13.2% de pentosanas y 9.6% de celulosa.

Dependiendo del procesado al que haya sido sometida la semilla, la harina puede presentar niveles variables de tiamina. Igualmente, el procesado incide sobre los niveles de gopisol que pueden oscilar entre 0.04 y 0.22%.

Gopisol

Si bien el conocimiento de la existencia del gopisol data de los estudios de Longmore (1886) y fue aislado por Marchlewski en 1899 (citados por Liener, 1958),

su relación con los efectos tóxicos del algodón no se estableció hasta 1915 cuando Withers y Carruth (cit. Liener, 1958) demostraron que el gopisol era la sustancia responsable de esos efectos.

Como ya se ha mencionado, el contenido en gopisol varía dependiendo del procesado al que se someta la semilla, generalmente este contenido oscila entre 0.2-0.4% en harinas desengrasadas directamente, 0.02% en harinas prensadas y 0.05% en harinas prensadas y posteriormente desengrasadas.

Uso de la harina de algodón en la alimentación de peces

Existen abundantes datos acerca del uso de la harina de algodón en la alimentación de pollos y cerdos desde el año 1930 (Altschul *et al.*, 1958). Sin embargo, nos centraremos exclusivamente en su aplicación a la alimentación de peces.

El uso de la harina de algodón como sustitutivo de la harina de pescado se ha estudiado sobre todo en salmónidos (Herman, 1970; Fowler, 1980), bagre (Dorsa *et al.*, 1982; Robinson *et al.*, 1984a; Robinson y Daniels, 1987) y tilapias (Jackson *et al.*, 1982; Ofojekwu y Ejike, 1984; Robinson *et al.*, 1984b; El-Sayed, 1987, 1990).

Los resultados de estos estudios han sido, a veces, confusos. Por ejemplo, Jackson *et al.* (1982) y El-Sayed (1987) encontraron que *Sarotherdon mossambicus* y *Tilapia zillii*, respectivamente, utilizaban eficientemente la harina de algodón como fuente de proteína, incluso a un nivel de inclusión del 100%. Por el contrario, Ofojekwu y Ejike (1984) indican que *Oreochromis niloticus* mostró un pobre crecimiento cuando se alimentó con una dieta cuya base era la harina de algodón. En esta misma especie de tilapia El-Sayed (1990) obtuvo buenos resultados, indicando que la harina de algodón puede ser usada como fuente proteica mayoritaria en las dietas de estos peces.

La capacidad de otros peces para utilizar la harina de algodón como una fuente de proteína parece ser, según El-Sayed (1990), específico de especie, ya que Fowler

(1980) encontró que la harina de algodón era eficientemente utilizada como sustitutivo de la harina de pescado por dos especies de salmón, *Oncorhynchus tshawytscha* y *O. kisutch*, hasta niveles del 34 y 22% de sustitución, respectivamente; Por el contrario, Dorsa *et al.* (1982), indicaron que dietas conteniendo más de un 17% de harina de algodón afectaban negativamente al crecimiento del bagre en las primeras etapas de desarrollo. Sin embargo, Barros (1992) encontró que la inclusión, en dietas para carpas, de un 24% de harina de algodón (en dietas con un 25% de proteína bruta), promovía una mayor ganancia de peso, mejores índices de conversión del alimento y un mayor nivel de proteína corporal y menor contenido graso.

El principal factor que limita el uso de la harina de algodón en dietas para peces es su contenido en gossipol, que es tóxico para un gran número de animales (Lovell, 1989). Sin embargo, y como ya se ha comentado, en peces este efecto parece depender de la especie. Herman (1970) encontró que un 0.03% de gossipol libre era tóxico para la trucha arco iris. Dorsa *et al.* (1982) observaron que el bagre puede tolerar hasta un 0.09% de gossipol libre en la dieta sin manifestar efectos negativos sobre el crecimiento. Además, Robinson *et al.* (1984b) encontraron que se puede añadir hasta un 0.2% de gossipol libre a la dieta de *Tilapia aurea*, y que el menor crecimiento encontrado en los peces se debía a la presencia de ácidos grasos ciclopropenoides contenidos en las semillas de algodón (tanto descortezado como con corteza), no al contenido en gossipol.

El-Sayed (1990) encontró que la adición de L-lisina a las dietas que contenían algodón, ejercía efectos insignificantes sobre el crecimiento. También indicó que el menor crecimiento obtenido con las dietas que contenían algodón se debería relacionar con su mayor contenido en fibra. Este efecto había sido ya demostrado por Teshima *et al.* (1987) en *Tilapia nilotica* alimentada con niveles crecientes de celulosa en la dieta.

La información disponible acerca del uso digestivo de la harina de algodón por los peces es muy escasa. Steffens (1987) recopila los datos disponibles en bibliografía, acerca de este aspecto, cifrándose la digestibilidad de la proteína de algodón en un 75% para la trucha arco iris, un 76% para el siluro marmóreo, y un 73% para la carpa.

2.1.3.2.2.2. LA HARINA DE ALTRAMUZ

El altramuz pertenece al género *Lupinus* de la Familia de las Leguminosas. Su origen se sitúa, principalmente, en dos centros: el Mediterráneo y el oeste de América. La superficie cultivada de altramuz a nivel mundial se cifra en dos millones de Ha, siendo los principales productores Rusia, Australia y Polonia. En España, aunque la superficie destinada al cultivo de esta leguminosa es muy escasa, la especie más cultivada es *Lupinus albus*, que es una variedad dulce de altramuz con bajo contenido en alcaloides. En nuestro país, la producción de altramuz ha ido descendiendo paulatinamente desde 1928, cifrándose la producción del año 1991 en 1500 Tm (BIAP, 1992b).

La composición general de la semilla de altramuz es de 27-43% de proteína (según las especies), 10-12% de grasa, 3-4% de cenizas y 17-27% de MELN. De su composición en aminoácidos hay que decir que es rica en lisina, en comparación con otras semillas, y pobre en aminoácidos azufrados. En cuanto a su contenido graso, *L. albus* se considera como potencialmente oleaginosa (10-12% de grasa). Su contenido en tocoferol es superior al de los aceites de girasol, soja o germen de maíz.

Hay que mencionar que el procesado tecnológico de la semilla puede acarrear una considerable modificación en la calidad proteica, ya que el tratamiento alcalino para la producción de la harina arrastra los aminoácidos azufrados, sobre todo metionina. Por otra parte, al no contener sustancias antinutritivas termolábiles, la cocción apenas mejora la calidad proteica, además, la digestibilidad de la proteína de la semilla cruda suele ser bastante alta; para truchas arco iris se han obtenido valores de digestibilidad de la proteína de altramuz crudo que oscilan entre el 82% (De la Higuera *et al.*, 1988) y el 89-90% (Gomes y Kaushik, 1989).

Uso de la harina de altramuz en la alimentación de peces

No existen muchos trabajos acerca de la utilización de la harina de altramuz en

la elaboración de dietas para acuicultura. Groop *et al.* (1979) obtuvieron buenos resultados cuando incluían hasta un 20% de harina de altramuz en piensos para trucha. Hugues (1988) en trucha y Viola *et al.* (1989) en carpa, comprobaron que la inclusión de harina de altramuz en la dieta (12% y 30% de la proteína total, respectivamente) produce resultados equiparables, o incluso mejores, a los de la soja.

De la Higuera *et al.* (1988) alimentando truchas arco iris con dietas que contenían niveles crecientes de harina de altramuz (de 10 a 40% de la proteína dietaria), comprobaron que ésta se podía incluir en crudo hasta niveles de sustitución del 30% de la proteína total en dietas del 45% de proteína. También comprobaron que el calentamiento de la harina no modificaba la calidad nutritiva de la proteína.

Gomes y Kaushik (1989) encontraron que la sustitución de un 10 y un 20% de la proteína de harina de pescado por proteína de altramuz, en dietas con un 42% de proteína, no tuvo efectos negativos sobre los valores de TCI, IC y CEC. No obstante, estos índices se resintieron cuando el porcentaje de sustitución de la proteína fue de un 30%. A este último nivel de inclusión, también se produjo un descenso significativo en el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la materia seca y de la proteína. La digestibilidad de la energía sufrió un descenso progresivo a medida que se aumentó el nivel de inclusión de altramuz (80.1, 76.8 y 72.7, para los niveles de inclusión 10, 20 y 30%, respectivamente), en comparación con la dieta control (85.1)

En relación a las posibilidades del altramuz, respecto a la soja, como fuente proteica alternativa, Hughes (1991) estudió el efecto de la sustitución de soja "full-fat" por altramuz, en dietas para trucha arco iris, encontrando muy buenos resultados incluso para los mayores niveles de inclusión (40% de la dieta) de ambas fuentes.

2.1.3.2.2.3. LA HARINA DE GIRASOL

El girasol pertenece al género *Helianthus* de la Familia de las Compuestas y se considera originario de Latinoamérica. Su cultivo se extiende actualmente a todo el

mundo y ha sido utilizado, fundamentalmente, para la obtención de aceite. Hay unas 25 especies en el género, de las que la más común en España es *H. annuus*.

La producción mundial de su semilla ha aumentado en los últimos años (19 mill. Tm en 1985); Asimismo, la producción en forma de harina se cifró en 6.5 mill. Tm en ese mismo año (FAO, 1985). En España, la producción total de semilla ha ido aumentando progresivamente y, aunque en 1991 hubo un descenso de la producción (994.3 miles Tm), en 1992 ésta se cifra en 1460.2 miles Tm (BIAP, 1992a).

La semilla de girasol está formada por dos partes diferenciadas, la corteza, constituida mayoritariamente por fibra, y el embrión, donde se localizan la grasa y la proteína. Para la obtención de harina es necesario el procesado de la semilla, que consiste en la eliminación de la corteza y el desengrasado. Dependiendo del procesado al que se someta la semilla, la composición de la harina resultante puede variar, pero, en general, la composición de una harina de girasol estandar es un 12% de humedad, 10% de fibra, 40% de proteína y 5% de grasa.

En lo que se refiere a la proteína, la harina de girasol suele presentar valores bajos de lisina, treonina e isoleucina, aunque el aminoácido limitante suele ser la lisina (Paredes-López, 1991). El contenido en carbohidratos puede variar dependiendo de la proporción de corteza eliminada. En general, la harina de girasol no contiene carbohidratos complejos como almidón, pero sí contiene mono-, di- y trisacáridos. En cuanto al contenido en vitaminas y minerales, cabe destacar que la harina de girasol es una buena fuente de vitaminas del complejo B y de fósforo y calcio, respectivamente.

Uso de la harina de girasol en la alimentación de peces

Al igual que ocurría con el algodón, los primeros estudios con harina de girasol, aplicada a la alimentación de animales de granja, datan del año 1945 (Clandinin, 1958), pero nos centraremos en su aplicación a la alimentación de peces, aunque los estudios son muy escasos. No obstante, se sabe que su inclusión a bajos niveles en dietas

para trucha arco iris (Tacon *et al.*, 1984; Martínez, 1986) y a altos niveles de inclusión en dietas para tilapia (Jackson *et al.*, 1982) es efectiva.

Tacon *et al.* (1984) encontraron, para dietas que incluían harina de girasol, valores de crecimiento y utilización del alimento muy similares a los obtenidos para las dietas que no contenían esta materia prima, incluso para niveles de inclusión de un 36.5% de la dieta. La suplementación de la dieta que contenía el mayor nivel de harina de girasol con L- metionina (la dieta era deficiente en este aminoácido), no mejoró los resultados y, por el contrario, los valores de ganancia de peso y de ingesta fueron inferiores.

2.1.3.2.2.4. EL GLUTEN DE MAIZ

El gluten está constituido por dos proteínas insolubles, la glutelina y la gliadina, presentes en los cereales. Es una sustancia obtenida por hidratación de estas proteínas y eliminación del almidón y sustancias solubles de la harina, con un papel fundamental en los procesos de panificación. A nivel industrial, el gluten de maíz se recupera como subproducto durante la obtención de almidón, siendo sus usos principales la fabricación de adhesivos, alimentos para diabéticos, fuente de ácido glutámico (aprox. 24.5% de la proteína) y alimentación animal como fuente de proteína y pigmentos. También se usa en la fabricación de glutamato monosódico, que es un potenciador de sabor muy utilizado en la industria alimentaria (Smith, 1958).

Uso del gluten de maíz en la alimentación de peces

Debido a su alto contenido en proteína (hasta un 72%), se le considera un concentrado proteico y, aunque se ha empleado con éxito en aves, suplementado con lisina, su uso en acuicultura no está muy extendido. Una de las principales limitaciones del gluten de maíz es, precisamente, su bajo contenido en lisina, por lo que se suele recomendar la suplementación con este aminoácido cuando se incluya a niveles muy

altos en la dieta.

Fauconneau (1988) afirma que el gluten de maíz llega a ser mejor sustituto de la harina de pescado que la propia caseína en dietas para salmónidos, aunque a bajos niveles de inclusión (menos del 12% de la dieta). Alexis *et al.* (1985) y Moyano *et al.* (1992) obtienen muy buenos resultados al sustituir la harina de pescado por gluten de maíz hasta niveles de un 30% en dietas para salmónidos.

En cuanto a la digestibilidad de la proteína de gluten de maíz, se han obtenido valores del 91% en carpa (Ogino y Chen, 1973a) y del 93% en trucha arco iris (Cho y Slinger, 1979).

2.1.3.2.2.5. LA HARINA DE SOJA

La soja, *Glycine maxima*, pertenece a la Familia de las Leguminosas. Es oriunda de China, desde donde se extendió por el Sudeste asiático, Asia Menor y Norte de Africa. En 1690 pasó a Europa y hacia 1860 a América. Su cultivo se extiende por todas las regiones templadas del globo, ocupando en la actualidad alrededor de 56 millones de Ha. Se cosecha sobre todo en EEUU (primer productor mundial), Brasil, China y Argentina, y su producción en los últimos años se cifra en unos 100 millones Tm/año. La producción de la soja en España es muy escasa, de hecho el consumo medio de dicha semilla en España se cifra en 2.5 millones de Tm de las cuales 2 millones deben ser importadas.

En la formulación de piensos se suele usar la harina de soja desengrasada, ya que el elevado contenido en grasas de la semilla entera (aprox. 18%) la hace representar un importante papel en la producción de aceite vegetal. La composición media de la semilla desengrasada es de un 10.4% de humedad, 49% de proteína, 0.8% de grasa, 30.9% de MELN y 5.9% de cenizas.

En la composición de aminoácidos del haba de soja destaca su elevado contenido

en lisina y baja proporción de aminoácidos azufrados.

Uso de la harina de soja en la alimentación de peces

La harina de soja ha sido, con mucho, la fuente de proteína vegetal más estudiada y empleada en las dietas para peces, debido a su relativamente elevado contenido proteico y a su adecuado perfil aminoacídico. Por otra parte, su digestibilidad, comparable a la de la harina de pescado, aseguraría una disponibilidad suficiente de aminoácidos para promover tasas de crecimiento aceptables. No obstante, todo ello depende de un adecuado tratamiento tecnológico que elimine los factores antinutritivos presentes en la semilla. La efectividad de los tratamientos difiere bastante entre sí (Kaushik, 1990; Murai, 1992), siendo la cocción, calentamiento por vapor y extrusión, los más efectivos.

Además de la presencia de factores antinutritivos, también cabe destacar otros factores negativos asociados a la harina de soja como son las deficiencias en algunos aminoácidos y la pobre disponibilidad del fósforo (Hardy, 1982; Tacon *et al.*, 1983b; Olli *et al.*, 1989). Asimismo, Arnensen *et al.*, (1989) encontraron que, en el salmón del Atlántico, los hidratos de carbono solubles, presentes en la soja, tienen efectos negativos sobre el crecimiento y la digestibilidad de los lípidos y, posiblemente, de las proteínas.

Los ensayos realizados con proteína de soja como único o principal componente proteico de las dietas para truchas, han dado como resultado pobres índices de crecimiento y conversión del alimento, en comparación con la harina de pescado, así como elevadas tasas de mortalidad (Rumsey y Ketola, 1975; Spinelli *et al.*, 1979; Tiews *et al.*, 1979). Liebowitz (1981) aportó datos más prometedores al demostrar que, mientras se cubran los requerimientos en fósforo y energía, la soja puede llegar a sustituir totalmente a la harina de pescado en dietas comerciales para bagre. Por el contrario, Murray (1982) encontró que, en condiciones similares, era necesario aportar a la dieta una pequeña cantidad de harina de pescado (6%) para evitar la disminución

del crecimiento.

Los efectos negativos sobre el crecimiento, resultado de la inclusión de la harina de soja en la dieta, generalmente se atribuye a un deficiente tratamiento tecnológico (insuficiente para inactivar el factor antitripsico); de hecho, la trucha arco iris es especialmente sensible al inhibidor de la proteasa presente en la soja (Dabrowski *et al.*, 1989; Olli *et al.*, 1989). Además de la trascendencia de un adecuado tratamiento tecnológico, como factor inevitable hay que considerar también un inadecuado aporte de algunos aminoácidos (De la Higuera, 1987).

Tras varios estudios realizados con trucha arco iris, salmón y carpa, Murai (1992) indica que la trucha parece ser capaz de utilizar más eficientemente la soja que el salmón (con un peso corporal similar) pero menos eficientemente que la carpa.

De todos modos, la mayoría de los aspectos negativos mencionados se pueden soslayar mediante el tratamiento tecnológico adecuado y/o la suplementación con aminoácidos.

2.1.3.3. METODOS Y TECNICAS EMPLEADAS EN LA MEJORA DE LA CALIDAD NUTRITIVA DE LAS PROTEINAS VEGETALES

La mayoría de las harinas vegetales que, potencialmente, se pueden considerar alternativas a la harina de pescado en las dietas para salmónidos, son el resultado de un complejo proceso de extracción de aceites durante el cual, además, es preciso eliminar factores antinutritivos o impalatables, estabilizar las harinas, evitar fuertes alteraciones por el calor, etc. Algunos de los procesos a los que se someten las semillas y granos vegetales, pueden suponer una merma en el valor nutritivo de la proteína, bien porque provocan su desnaturalización, o bien porque pueden disminuir la disponibilidad de algunos aminoácidos esenciales por reacciones de Maillard u oxidaciones.

Tabla 2.3. Principales factores antinutritivos y tóxicos presentes en algunas semillas y granos vegetales.

	Algodón	Altramuz	Girasol	Maíz	Soja	Vías de mitigación
Inhibidor de la proteasa			x	x	x	Calor, autoclave
Hemaglutininas					x	Calor, autoclave
Glucosinolatos					x	Nuevas variedades
Acido fítico	x			x	x	Suplementación
Saponinas					x	Extracc. con alcohol
Taninos			x			Supl. Met y Colina
Factores oestrogénicos	x			x	x	Extracc. con solventes
Factores de flatulencia					x	Extracc. con solventes
Gosipol	x					Nuevas variedades
Factores de flatulencia					x	Extracc. con alcohol
Anti-vitamina E	x				x	Autoclave + Vit.E
Anti-vitamina A					x	Trat. térmico o
Anti-vitamina D					x	autoclave
Anti-vitamina B ₁₂					x	Trat. térmico
Ac. grasos ciclopropenoides	x		x			Extracc. con solventes
Aflatoxina	x		x	x	x	Evitar crecim. hongos
Alcaloides		x				Nuevas variedades

Datos recopilados de Tacon y Jackson (1985) y Kaushik (1990).

La mayoría de los procesos tecnológicos, a los que se someten las semillas y granos vegetales, tienden a producir la ruptura de los mismos y a hacer más disponibles sus macronutrientes, sobre todo los carbohidratos, así como a eliminar algunos de los factores antinutritivos que contienen. Los principales factores antinutritivos y tóxicos presentes en las semillas y granos vegetales, de los que proceden las harinas usadas este trabajo, se indican en la Tabla 2.3.

Los tratamientos a los que se someten las semillas y granos vegetales pueden resumirse en:

-Micronización: Tratamiento con calor seco en el cual el material vegetal es expuesto a radiación infrarroja durante 20-30 s. Tras este proceso, el material se convierte en copos, consiguiéndose un cierto grado de gelatinización y rotura de los granos de

almidón, además de una escasa pérdida de humedad. Este tratamiento mejora la digestibilidad del almidón.

-Extrusión: Con este tratamiento se fuerza el paso de partículas de material vegetal de tamaño adecuado a través de una matriz perforada, mediante el uso de altas presiones. El calentamiento producido, consecuencia del roce entre las partículas, mejora la biodisponibilidad del almidón y de la grasa.

-Expansión: Este tratamiento consiste en someter al material vegetal a la acción de altas presiones con vapor y/o agua, extruyéndolo a continuación, provocándose la expansión del material intracelular. El tratamiento rompe la membrana celulósica indigestible que rodea la célula vegetal, con lo que aumenta la disponibilidad de la proteína y la digestibilidad de los hidratos de carbono; también destruye y/o inactiva los factores antinutritivos termolábiles presentes en las semillas y granos.

Una vez obtenida la harina vegetal, hay otra serie de factores que pueden afectar su utilización por el animal, como son la deficiencia en algunos aminoácidos esenciales, presencia de hidratos de carbono poco digestibles, baja disponibilidad de algunas vitaminas y minerales, etc.

En el caso de las deficiencias en aminoácidos esenciales, se suele recurrir a la suplementación con aminoácidos sintéticos o a la mezcla de fuentes proteicas que complementen sus deficiencias.

En cuanto a las deficiencias en vitaminas y minerales, la adición, actualmente generalizada, de correctores vitamínicos y minerales a los piensos, las suele cubrir sobradamente.

En lo referente a la baja utilización digestiva, además de los tratamientos tecnológicos citados anteriormente, hay algunos trabajos acerca de la suplementación con enzimas exógenas, sobre todo tendentes a mejorar la digestibilidad de los hidratos de carbono presentes en las harinas.

2.2. DIGESTIBILIDAD DEL ALIMENTO EN PECES

2.2.1. DIGESTION EN PECES. GENERALIDADES

La digestión es el proceso mediante el cual el alimento, dentro del tracto digestivo, es roto en componentes simples capaces de ser absorbidos a través del epitelio intestinal para pasar hacia el torrente sanguíneo. Las proteínas son hidrolizadas hasta aminoácidos o peptidos de cadena corta, los carbohidratos son divididos en azúcares simples, y las grasas en ácidos grasos y glicerol. Estos procesos son llevados a cabo por las enzimas digestivas mientras el alimento es transportado a lo largo del tracto digestivo.

Las enzimas digestivas son hidrolasas, es decir, sustancias que catalizan el desdoblamiento hidrolítico. Por lo general son de naturaleza proteica e hidrosolubles. Dependiendo de su actividad fisiológica se pueden dividir en tres grupos: Enzimas proteolíticas (desdobladoras de proteínas), Esterasas (desdobladoras de grasas), Carbohidrasas (desdobladoras de carbohidratos).

La producción de enzimas digestivas se localiza en varios órganos y, en el caso de los peces, podemos resumirla según el siguiente esquema propuesto por Steffens (1987):

ESTOMAGO	—————	Pepsinógeno
		Enteroquinasa
		α -Amilasa
INTESTINO	—————	α -Glucosidasa
		β -Galactosidasa
		Lipasa
PANCREAS	—————	Tripsinógeno
		Quimotripsinógeno
		α -Amilasa
		Lipasa

A nivel del estómago, la pepsina es secretada en forma inactiva (pepsinógeno) que es activada en medio ácido (Kapoor *et al.*, 1975; Twining *et al.*, 1983). Estos últimos autores, determinaron un pH de 2 como óptimo para la actividad de la pepsina de *Salmo gairdneri*. Esta actividad proteolítica aparece bien desarrollada en truchas juveniles, mientras que las de intestino son inicialmente escasas (Kitamikado y Tachino, 1960a) aumentando con la edad.

Si bien algunos autores han atribuido a los ciegos pilóricos algunas funciones secretoras, en la actualidad las secreciones encontradas al realizar extractos de tejido de la región pilórica son consideradas de origen pancreático (Bishop y Odense, 1966; Jany, 1976; Fraisse *et al.*, 1981).

Una vez pasa el quimo al intestino, se inicia la liberación de secreciones pancreáticas y de bilis procedente del hígado. En cuanto a las proteasas intestinales, se han encontrado actividades del tipo de la tripsina, quimotripsina, carboxipeptidasa y elastasa en bastantes especies de peces. Estas enzimas serían secretadas como zimógenos que serían activados en el intestino de manera análoga a como ocurre en vertebrados superiores (Cohen *et al.*, 1981; Yoshinaka *et al.*, 1981a,b, 1982) mediante la acción de enteroquinasa y tripsina. El pH del fluido intestinal, tanto en peces con estómago, como en los agástricos, es aproximadamente neutro o básico (Kapoor *et al.*, 1975; Fange y Grove, 1979).

El tripsinógeno es activado por la enteroquinasa intestinal a tripsina o bien autocatalíticamente por la propia tripsina (Uchida *et al.* 1973). Del mismo modo, el quimotripsinógeno es activado a quimotripsina cuando se pone en contacto con la tripsina. Estos dos enzimas proteolíticos rompen los polipeptidos en péptidos de cadena corta. A continuación intervienen las carboxipeptidasas, que actúan a nivel de las terminaciones carboxílicas, y aminopeptidasas, que atacan a los aminoácidos terminales. Kawai e Ikeda (1973) comprobaron que, en la trucha arco iris, la digestión de la proteína en la etapa juvenil depende más de la actividad de las enzimas tríplicas que de las pépsicas. También determinaron que una elevada tasa de proteína en el pienso, acompañada de bajo contenido de celulosa, incrementa la actividad proteolítica de las

truchas jóvenes, mientras que la relación inversa provoca una actividad menor.

En cuanto a la actividad lipolítica, Patton *et al.* (1975), analizando la actividad lipolítica del fluido intestinal de varios peces teleósteos, encontraron que ésta no era estereoespecífica, sugiriendo que la enzima responsable de la actividad lipolítica sería una hidrolasa éster-carboxílica también llamada lipasa no específica. Se ha detectado actividad lipolítica a lo largo de todo el tracto digestivo de peces incluyendo estómago e intestino (Kitamikado y Tachino, 1960b; Nagase, 1964; Sastry, 1974 y Swarup y Goel, 1975). En la trucha arco iris, la actividad lipásica del estómago es relativamente escasa. La digestión última de las grasas tiene lugar en el intestino con ayuda de la lipasa pancreática que ha sido aislada (Leger, 1972), encontrándose que tiene un pH óptimo de 8.4 ó 8.7 según la temperatura de aclimatación.

La acción de las lipasas depende, en gran medida, de la producción de sales biliares, como ha sido demostrado en trucha (Leger *et al.*, 1977) y en tiburón leopardo (Patton *et al.*, 1977). En trucha se ha encontrado que los ácidos taurocólico y tauroquenodesoxicólico suponen un 85% y 14%, respectivamente, del total de ácidos biliares (Denton *et al.*, 1974). La acción emulsionante de las sales biliares sobre los lípidos facilita la acción de las enzimas lipolíticas y también permite la absorción directa de algunos de ellos.

En cuanto a la digestión de los carbohidratos, parece verse afectada y estimulada por las secreciones ácidas del estómago (Moriarty, 1973). Aún cuando esta actividad aparezca en diversas partes del tracto digestivo, parece que en todos los casos su origen es pancreático (Phillips, 1969; Kawai e Ikeda, 1973; Yamane, 1973a,b; Overnell, 1973). El pH óptimo para la actividad α -amilásica se sitúa entre 7 y 8 en peces de agua dulce (Kuz'Mina y Nevalenny, 1983).

El número de carbohidrasas es relativamente elevado, ya que son muy específicas de su acción. El almidón o el glucógeno se desdoblan bajo los efectos de las α -amilasas en oligosacáridos o también hasta el escalón de maltosa. En el desdoblamiento de disacáridos y oligosacáridos es importante la estructura de los

mismos, llevando a cabo dicha función, fundamentalmente, las α -glucosidasas y β -galactosidasas.

En cuanto a la presencia de amilasas en peces carnívoros hay controversia, ya que mientras Kitamikado y Tachino (1960c), en *Oncorhynchus mykiss*, y Ushiyama *et al.* (1965), en *Oncorhynchus keta*, encontraron altas proporciones de estas enzimas, otros autores, como es el caso de Nagayama y Saito (1968), encontraban que el porcentaje de amilasa en el tracto digestivo de peces carnívoros, como la trucha y la anguila, era insignificante.

Un factor importante a destacar es que, en el caso de peces carnívoros, la digestión de carbohidratos es inversamente proporcional a su contenido en la dieta (Bergot, 1979b). Según Singh y Nose (1967), la trucha absorbe el 69% del almidón cuando éste se incluye en la dieta en un 20%, pero cuando el porcentaje de inclusión asciende a un 60% solo se absorbe un 26%. En este sentido, Buddington y Hilton (1987) encontraron que tanto las actividades disacaridasas como la liberación de glucosa se reducían considerablemente en truchas alimentadas con altos niveles de glucosa durante un periodo de 30 días.

2.2.2. DETERMINACION DE LA DIGESTIBILIDAD DEL ALIMENTO. COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD

Durante el paso del alimento a través del tubo digestivo, no todo es digerido y absorbido. La porción no digerida es excretada en forma de heces. La porción absorbida se determina por diferencia entre la cantidad de nutrientes ingerida y excretada y, normalmente, se expresa como porcentaje de la cantidad ingerida en lo que se denomina "Coeficiente de Digestibilidad Aparente":

$$\text{CDA} = \frac{\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}}{\text{nutriente ingerido}} \times 100$$

El Coeficiente de Digestibilidad se puede determinar para el conjunto del alimento en materia seca, pero, como generalmente la digestibilidad es diferente para proteína, carbohidratos y lípidos, usualmente se determina separadamente para cada uno de estos nutrientes. La determinación del Coeficiente de Digestibilidad mediante el método directo (determinación de la cantidad total de alimento ingerido y de heces excretadas) es normalmente realizada en animales de granja y también se utilizó hasta finales del siglo pasado para estudios con peces (Homburger, 1877, citado por Knauth, 1898). No obstante, el uso de este método en peces presenta grandes inconvenientes.

Un primer inconveniente que presenta su determinación en peces, es que el alimento sumergido en el agua y las heces que en ella se excretan, hace que los nutrientes tanto del alimento como de las heces puedan dispersarse y disolverse en el medio. Si las pérdidas de los nutrientes de las heces son consideradas como absorbidas por el animal se introducirá un error en el Coeficiente de Digestibilidad, el cual presentará valores más elevados que los verdaderos. Muchos autores han estudiado este fenómeno (Tunison *et al.*, 1942; Mann, 1948; Smith y Lovell, 1971, 1973; Windell *et al.*, 1978; Vens-Cappell, 1985) y, en todos los casos, se corroboran estas pérdidas de nutrientes por dispersión en el agua, con el consiguiente aumento de los Coeficientes de Digestibilidad.

Por otra parte, también puede producirse una contaminación de las heces con el alimento no ingerido, con lo que los Coeficientes de Digestibilidad serán infravalorados.

En muchos de los estudios iniciales acerca de la digestibilidad del alimento se utilizó este método, a pesar de sus inconvenientes. En algunos casos se hicieron grandes esfuerzos para reducir el error lo máximo posible, alimentando al pez en un acuario y transfiriéndolo después a otro en el que se recogían las heces. El agua de ambos acuarios se filtraba para recoger los residuos de comida y heces. Este procedimiento fue adoptado originariamente por Morgulis (1918) y más tarde por otros investigadores como Tunison *et al.* (1942), Hanaoka *et al.* (1948), Bondi *et al.* (1957), aunque introducía un factor de error nuevo: el estrés provocado a los animales.

De cara a salvar los inconvenientes anteriormente citados se han desarrollado una serie de técnicas, de determinación de la digestibilidad de forma indirecta, basadas en el método empleado por Edin (1918) con rumiantes, mediante la adición a la dieta de un marcador inerte (no se digiere ni se absorbe). Los cambios en las proporciones de nutriente y marcador en dieta y heces, permiten el cálculo indirecto de la digestibilidad de dicho nutriente, según la siguiente expresión:

$$\text{CDA} = 100 - \left[\frac{\% \text{ indicador en dieta} \times \% \text{ nutriente en heces}}{\% \text{ indicador en heces} \times \% \text{ nutriente en dieta}} \times 100 \right]$$

La ventaja de este método indirecto es que no es necesario determinar la cantidad total de alimento ingerido ni de heces excretadas, basta analizar una muestra de ambos y determinar su contenido en nutriente y marcador.

La utilización de una sustancia como marcador, para estudios de digestibilidad, requiere que la misma no altere las cualidades organolépticas de la dieta, que no sea digerida ni absorbida, que no interfiera con la digestión o absorción del resto de los nutrientes, que pase a través del tracto gastrointestinal a la misma velocidad que el resto de la digesta, y que tenga una relativamente fácil determinación analítica.

Son muchas las sustancias propuestas como posibles marcadores inertes. Edin (1918) introdujo el óxido de cromo (Cr_2O_3) cuya utilidad, en la determinación de la digestibilidad en peces, fue confirmada por Austreng en 1978. Aunque este marcador es el más utilizado en la actualidad, se han ensayado otras sustancias con mayor o menor efectividad.

Njaa (1961) utilizó el dióxido de titanio. Hirao *et al.* (1960) y Yamada *et al.* (1962) usaron ^{32}P en fosfomolibdato amónico, que es insoluble en agua, pero no obtuvieron resultados satisfactorios. La sílice fue incluida como marcador por Hickling (1966) y, posteriormente, por Tacon y Rodríguez (1984) y Atkinson *et al.* (1984). Estos últimos comprobaron que, en el caso de dietas en las que el contenido de cenizas

insolubles en ácido fuera bajo, la sílice era un marcador efectivo y alternativo al óxido de cromo en la determinación de la digestibilidad en truchas.

Otros marcadores utilizados han sido la celulosa (Buddington, 1979), magnesio (Klekowski y Duncan, 1975), la materia orgánica resistente a la hidrólisis, esencialmente celulosa y quitina (Buddington, 1980; De Silva y Perea, 1983), la fibra bruta (Tacon y Rodrigues, 1984), y la ceniza resistente a la hidrólisis (De Silva y Perea, 1983).

En el caso de usar este método de determinación de la digestibilidad, la problemática se "reduce" a obtener una muestra suficiente de heces, que sea representativa de las emitidas naturalmente.

Las dificultades impuestas por el medio acuático han impulsado el desarrollo de toda una serie de técnicas de recogida de excretas:

Nose (1960) inició la recogida de excretas por presión abdominal (stripping), método que también adoptaron otros investigadores (Inaba *et al.*, 1962; Austreng, 1978; Windell *et al.*, 1978; Vens-Cappell, 1985). También se obtienen las heces por disección de la región anal (Smith y Lovell, 1971, 1973; Austreng, 1978; Windell *et al.*, 1978; Henken *et al.*, 1985) y por succión anal (Lovell, 1977; Windell *et al.*, 1978; Brown *et al.*, 1985). En la mayoría de los casos, se somete a los peces a una situación estresante, e incluso es posible que se obtengan los nutrientes parcialmente digeridos o absorbidos. Además, una evacuación forzada puede provocar una excesiva eliminación de enzimas digestivas, fluidos corporales y epitelio intestinal, que alteran los índices de utilización digestiva. Austreng (1978) y Pfeffer (1982) indican que si las heces se obtienen por presión abdominal pueden contaminarse con proteínas del animal, obteniéndose Coeficientes de Digestibilidad más bajos que los reales.

Smith (1971) mantenía los peces en cámaras metabólicas donde recogía las heces evacuadas directamente del agua. Alliot *et al.* (1978) también obtuvieron las heces directamente del tanque, mediante pipeteado inmediato tras su evacuación al agua.

Ogino *et al.* (1973) recogían por separado las heces y los productos finales del metabolismo nitrogenado, haciendo pasar el agua efluente de los tanques a través de una columna de filtración.

Kaushik y Luquet (1976) utilizan tanques cilindro-cónicos en los que se produce una evacuación continua de las heces, que son recogidas por una cinta sinfin perforada, pero este dispositivo no siempre ha dado resultados satisfactorios al depender de la consistencia de las heces.

Choubert *et al.* (1979) diseñaron un colector de heces consistente en unos coladores rotatorios que retiraban continuamente las heces del agua efluente del tanque, este sistema tenía la desventaja de que los coladores proyectaban las heces recogidas a una bandeja desde una altura de 11 cm, provocando la ruptura de las mismas. Los mismos autores, en 1982, eliminaron este inconveniente haciendo que las mallas que atrapaban las heces se movieran linealmente, encontrando satisfactorios los resultados de composición final de las heces, al ser muy similares a las que presentan en el momento de ser excretadas.

Uno de los métodos de recogida actualmente más aceptado es el de Cho *et al.* (1975, 1982), conocido como "Sistema GUELPH (CYAQ-2)", mediante el cual el agua sifona por un tubo de baja presión y las heces van sedimentando en el fondo, de donde se extraen con una frecuencia determinada.

En el caso de las heces obtenidas por decantación (Cho *et al.* 1975) o por filtración continua (Choubert *et al.* 1979) del agua, éstas pueden haber sufrido un lavado (leaching) que puede llevar a sobreestimar la digestibilidad del nutriente. Smith *et al.* (1980) estudiaron el efecto del "leaching" sobre los Coeficientes de Digestibilidad en salmónidos mantenidos en cámaras metabólicas. La recogida de heces fue similar a la realizada por Smith (1971). Las heces fueron separadas por tres métodos: sedimentación, centrifugación y filtración, y en todos los casos se evidenció pérdida de nutrientes.

Cho *et al.* (1982), realizaron un análisis comparativo de los valores de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente obtenidos al aplicar diferentes métodos de recogida y observaron un estrecho parecido entre los valores de digestibilidad obtenidos por los métodos basados en disección intestinal y recogida del contenido rectal por succión y los hallados usando la columna de sedimentación, lo cual indicaba que el "leaching", en su sistema, no constituía una fuente importante de error.

Más recientemente, Spyridakis *et al.* (1989a) estudiaron el efecto de distintos métodos de recogida de heces sobre la digestibilidad de distintos nutrientes en la lubina (*Dicentrarchus labrax*). Los métodos usados fueron disección, stripping, succión anal, pipeteado inmediato en el tanque, filtración continua (Choubert *et al.*, 1982) y decantación (Cho *et al.*, 1982). Los autores llegan a la conclusión de que el mejor método de recogida es la filtración continua.

2.2.2.2. DIGESTIBILIDAD APARENTE Y VERDADERA

Además de la proteína dietaria, hay cierta cantidad de proteína de origen endógeno que aparece en el tracto digestivo, donde es digerida junto con la derivada de la dieta. Parte de esta proteína endógena está formada por enzimas y mucoproteínas secretadas en el tracto digestivo; el resto consiste en proteínas tisulares procedentes de la descamación de las células de la mucosa, que es uno de los pocos tejidos en los que se produce una continua renovación de sus células.

La digestión de la proteína endógena no es completa y parte de ella se elimina en heces. Además, en muchos peces las heces son evacuadas como gránulos con una cubierta mucosa que contiene proteínas. Ya que esa fuente de proteína es el resultado de procesos fisiológicos y metabólicos, es llamada "proteína metabólica fecal". La inclusión de la proteína metabólica, junto con la proteína de origen dietario, en las heces, causa un desvío de los Coeficientes de Digestibilidad hacia valores menores. Este coeficiente, calculado sin tener en cuenta la cantidad de proteína metabólica es, por tanto, el "Coeficiente de Digestibilidad Aparente" para distinguirlo del "Coeficiente de

Digestibilidad Verdadero" que se calcula descontando de las heces la cuota endógena.

Nose (1967) indica que, en muchos casos, donde el efecto de la concentración de proteína sobre su digestibilidad es discutida, el aumento de la digestibilidad con un aumento de la concentración proteica puede ser resultado de la inclusión de la proteína metabólica fecal, y la digestibilidad verdadera no mostraría demasiadas variaciones, como encontraron, en efecto, Ogino y Chen (1973a). Debe ser mencionado, no obstante, que en algunos casos, como en la seriola (*Seriola quinqueradiata*), se ha encontrado un aumento de la digestibilidad verdadera cuando aumenta el contenido proteico del alimento. En cualquier caso, es importante tener presente que a mayor contenido proteico en la dieta, menor es la diferencia entre la digestibilidad aparente y verdadera de la proteína. Ogino y Chen (1973a) encontraron, en carpa, que la diferencia es menor cuando la cantidad de proteína ingerida está en torno a 150 mg/100 g de peso corporal por día.

Para determinar la digestibilidad verdadera, la cantidad de proteína metabólica fecal debe ser determinada y restada de la proteína en heces. Se han realizado sólo unos cuantos estudios para determinar la proteína metabólica fecal en peces y los factores que la afectan. La proteína metabólica fecal se expresa en relación con el alimento ingerido o con el peso corporal del pez. Como estos dos parámetros están correlacionados, las variaciones entre ambos métodos de expresión son generalmente mínimas. La proteína metabólica fecal puede determinarse midiendo la cantidad de nitrógeno excretado en las heces cuando el animal ingiere una dieta sin proteína. Esto, no obstante, puede ser un problema en peces carnívoros que no aceptan este tipo de alimento. Algunos autores han determinado el contenido en proteína metabólica fecal de heces excretadas bajo condiciones de ayuno (Tunison *et al.*, 1942), pero está claro que esto provoca una cierta desviación de los resultados, ya que el nitrógeno fecal determinado en condiciones de ayuno es menor que el determinado cuando el animal es alimentado. Kim (1974) determinó el nitrógeno metabólico fecal en carpa común hallando la regresión entre el nivel proteico en dieta y el nitrógeno excretado en heces por 100 g de alimento ingerido y, extrapolando a cero la proteína en la dieta, se podía determinar el nitrógeno metabólico fecal. Ogino *et al.* (1973) compararon este método con el de alimentación

con una dieta sin proteína y comprobaron que la diferencia entre ambos era pequeña, resultando, la excreción endógena, algo menor al aplicar el método de extrapolación. Además, también comprobaron que la temperatura puede afectar la excreción de nitrógeno metabólico fecal, que aumentó al aumentar ésta. En general, está claro que, para ingestas adecuadas en peces que acepten la dieta, la alimentación con una dieta sin proteína es la vía más sencilla para determinar el nitrógeno metabólico fecal.

2.2.3. FACTORES QUE AFECTAN A LA DIGESTIBILIDAD

La digestión del alimento depende principalmente de tres factores:

- 1- El alimento ingerido y el grado en que éste es susceptible de ser digerido por las enzimas digestivas.
- 2- La actividad de las enzimas digestivas.
- 3- El tiempo durante el cual el alimento está expuesto a la acción de las enzimas digestivas.

Cada uno de estos factores se ve afectado, a su vez, por múltiples factores secundarios, algunos de los cuales están asociados con el pez en sí mismo, tales como especie, edad, tamaño, y condiciones fisiológicas; otros, asociados a las condiciones ambientales, como la temperatura del agua; y otros relacionados con el alimento, como pueden ser su composición, tamaño de partícula, cantidad ingerida, etc.

Especie

Los Coeficientes de Digestibilidad pueden variar según las especies, debido tanto a las diferencias en el aparato digestivo como a sus enzimas digestivas. A pesar de esas diferencias y la ausencia de pepsina en peces sin estómago, las variaciones en la digestibilidad de proteínas y lípidos entre especies es pequeña. Mucho más pronunciadas son las variaciones en la digestibilidad de los carbohidratos, especialmente el almidón.

Como ya se ha indicado, los peces carnívoros digieren el almidón en una menor proporción que los omnívoros y los herbívoros. Mientras que en salmónidos la digestibilidad del almidón crudo puede ser tan baja como 38-55% (Bergot y Bréque, 1983), dependiendo de su concentración en la dieta, la de la carpa se mantiene alta incluso para niveles elevados de éste. Chiou y Ogino (1975), en carpa común, establecieron una digestibilidad del α -almidón del 84% cuando su concentración en la dieta era de un 48%. También pueden producirse diferencias en la digestibilidad de los carbohidratos entre razas de peces carnívoros dentro de la misma especie, como fue demostrado por Refstie y Austreng (1981) para truchas.

Debe tenerse en cuenta que, además de la baja digestibilidad, los peces carnívoros tienen otras limitaciones fisiológicas para la utilización de los hidratos de carbono. Tunison *et al.* (1939) y Phillips *et al.* (1948) sostenían que los carbohidratos digestibles en las dietas para truchas no deben exceder el 12% ya que un contenido mayor causa una acumulación de glucógeno en el hígado, asociada a perturbaciones fisiológicas y, a veces, muerte del pez. También Edwards *et al.* (1977) indicaron que el aumento de los carbohidratos en la dieta desde un 17 a un 35%, deprime el crecimiento de la trucha arco iris. Refstie y Austreng (1981) alimentaron truchas arco iris con una dieta que contenía un 41.6% de extracto libre de nitrógeno, durante 282 días, sin signos patológicos aparentes ni aumento de la mortalidad, pero la dieta redujo el crecimiento y produjo hígados mayores que con dietas bajas en carbohidratos.

Edad del pez

Se ha comprobado que la actividad enzimática puede cambiar con la edad del pez y que las actividades proteolíticas y amilolíticas de la trucha, en las primeras etapas de desarrollo, son menores que en etapas posteriores. Esto, obviamente, puede afectar los Coeficientes de Digestibilidad. Así, Kitamikado Y Tachino (1960b) y Kitamikado *et al.* (1964) encontraron que, en trucha, las digestibilidades de caseína y de proteína de harina de pescado y de hígado de vaca eran más bajas en las etapas tempranas de desarrollo (por debajo de los 10 g) que en etapas posteriores (10-100 g), durante las

cuales estos valores de digestibilidad no cambiaron mucho, lo cual fue especialmente evidente para la harina de pescado. También Windell *et al.* (1978) encontraron diferencias en la digestibilidad de la proteína entre truchas arco iris pequeñas (18.6 g) y otras mayores, pero solo a una relativamente baja temperatura del agua (7°C); a mayores temperaturas no se encontraron estas diferencias.

Condiciones fisiológicas

En peces estresados, debido tanto a la excesiva manipulación como a las enfermedades, la digestibilidad puede verse alterada. Job (1977) encontró que, al transferir tilapias de su medio natural a tanques experimentales, mostraron una defecación aumentada hasta la aclimatación. Un periodo prolongado de ayuno puede afectar negativamente a la secreción enzimática y a la digestibilidad. El ayuno generalmente disminuye la capacidad hidrolítica del intestino (Risse, 1971) por una reducción de la actividad de las enzimas digestivas (Ananichev, 1959; Overnell, 1973).

También se ve influenciada la digestibilidad por los cambios estacionales; así, Chepik (1964) encontró que, en carpa común, los mayores valores de digestibilidad se daban en primavera y los menores en invierno.

Temperatura del agua

En animales ectotermos, las enzimas digestivas se ven afectadas por la temperatura, al contrario de lo que ocurre en endotermos, en los que las enzimas son activas a una temperatura más o menos constante.

En ectotermos, un aumento de la temperatura provoca una elevación tanto de la secreción de enzimas como de la actividad enzimática (Schlottke, 1938-9; Nordlie, 1966; Smit, 1967; Trofimova, 1973). Asimismo, la temperatura también afecta a la absorción de nutrientes digeridos a nivel de intestino y a la velocidad de tránsito del

alimento a través del tracto digestivo (Hepher, 1988; Carneiro, 1992). A mayor temperatura mayor velocidad de tránsito y menor tiempo de exposición a la acción de las enzimas digestivas.

Se han realizado muy pocos estudios acerca de la influencia de la temperatura sobre la digestibilidad. No obstante, se tienen referencias de algunos trabajos antiguos acerca del tema, como es el caso de Krazinkin (1935, 1952) (citado por Shcherbina y Kazlauskene, 1971) que encontró que, en la carpa común, la digestibilidad de la totalidad de nutrientes aumentaba con un aumento de la temperatura, pero la digestibilidad de la proteína no cambiaba o incluso disminuía ligeramente. Los mismos autores hacen referencia a los trabajos de Brizinova (1949, 1953) en carpa, en los que encontró una disminución de la digestibilidad de la proteína, de un alimento natural constituido por larvas, al aumentar la temperatura.

Posteriormente, Cho y Slinger (1979) encontraron que los Coeficientes de Digestibilidad en trucha arco iris no cambiaron en un rango de temperatura entre 9 y 15°C y aumentaron ligeramente cuando la temperatura se elevó hasta 18°C.

Salinidad del agua

MacLeod (1977) encontró, en trucha arco iris, que la digestibilidad de materia seca, energía y proteína disminuía linealmente con un aumento de la salinidad desde agua dulce a salada. No obstante, no se conoce mucho acerca del efecto de este factor sobre la digestibilidad y no se sabe si los cambios anteriormente citados se deben directamente al contenido salino del agua o a un efecto estresante indirecto.

Composición del alimento

Los nutrientes de distintas materias alimentarias pueden ser digeridos en mayor

o menor grado dependiendo de la fuente y la composición de dicho alimento.

El principal motivo de la menor digestibilidad de las fuentes de origen vegetal es la presencia de hidratos de carbono. Tunison *et al.* (1942, 1943, 1944) encontraron, en sus estudios con trucha, una relación inversa entre la digestibilidad de la proteína y el contenido en hidratos de carbono en el alimento, su explicación a este hecho era que la porción de carbohidratos no digerida pasaba más rápidamente a través del tracto digestivo, arrastrando con ella parte de la proteína. Falge *et al.* (1978) indican que el aumento del contenido en carbohidratos de la dieta reduce la actividad de las enzimas proteolíticas aunque, no obstante, ésta permanece bastante alta, de modo que es dudoso que la digestibilidad de la proteína se vea afectada en este sentido.

También se ha encontrado un efecto del contenido lipídico de la dieta sobre la digestibilidad. Así, Watanabe *et al.* (1979) comprobaron, en trucha arco iris, que el aumento de los lípidos dietarios de un 5 a un 23% provocaba el aumento de la digestibilidad de la energía total, debido a un aumento en la digestión de las proteínas, los carbohidratos y la propia grasa. En relación con los lípidos, se ha demostrado que su digestibilidad depende de su composición y saturación, disminuyendo ésta cuando aumenta el número de átomos de carbono y/o disminuye el número de dobles enlaces en los ácidos grasos.

La digestibilidad también se ve afectada por el tamaño de partícula del alimento. Se ha demostrado que a menor tamaño mayor digestibilidad (Mann, 1948; Kitamikado *et al.*, 1964), al aumentar la superficie de acción de las enzimas digestivas.

Otro factor a considerar es el procesado al que se someten algunas materias primas usadas en alimentación. Así, la cocción del alimento mediante métodos que impliquen un proceso de extrusión pueden hacerlo más digestible, sobre todo en el caso de los carbohidratos, que quedan gelatinizados, lo cual los hace más digestibles por los salmónidos (Smith, 1971; Bergot y Breque, 1983; Vens-Cappell, 1984). La molienda y cocción mejora la digestibilidad de proteína y almidón de dietas para pez gato (Lovell, 1984).

En el caso de algunos alimentos de origen vegetal, y como ya se ha indicado en un apartado anterior, también están presentes una serie de factores inhibidores de las enzimas digestivas que, por tanto, afectan a la digestibilidad. Es el caso de la soja que contiene un inhibidor de la tripsina y el trigo que contiene un inhibidor de la α -amilasa. Además de las anteriores, hay otra serie de sustancias tóxicas o antinutritivas que también pueden afectar a la digestibilidad.

Cantidad y frecuencia de alimentación

Teniendo en cuenta lo encontrado en literatura, parece que estos factores no afectan directamente la digestibilidad.

En lo referente a la cantidad de alimento ingerido, Bondi *et al.* (1957) no encontraron cambios en los coeficientes de digestibilidad cuando aumentó la cantidad de alimento ingerido por la carpa común. Asimismo, Windell *et al.* (1978) no encontraron variaciones en la digestibilidad de proteína y lípidos, cuando alimentaron truchas arco iris con raciones que iban desde un 0.4 a 1.6% del peso corporal.día⁻¹, no obstante, sí encontraron un significativo descenso de la digestibilidad de carbohidratos y, por tanto, de la materia seca, para los mayores niveles de ingesta, como era de esperar al tratarse de peces carnívoros.

La frecuencia de alimentación tampoco parece afectar la digestibilidad, lo cual fue comprobado por Hudon y De la Noüe (1984) cuando aumentaron la frecuencia de alimentación de truchas arcoiris de dos a seis veces al día.

2.3. BIOENERGETICA EN PECES

La vida existe como un estado termodinámicamente inestable, cuya continuidad depende del equilibrio existente entre la incorporación de energía con los alimentos y la producción de calor, consecuente a los procesos de mantenimiento. Así, si la dieta proporciona menos energía de la que el animal necesita para mantener sus procesos vitales, además del alimento, se catabolizarán los tejidos corporales.

En animales poiquiloterms, como es el caso de los peces, la temperatura ejerce un papel muy importante a este nivel, ya que su tasa metabólica puede variar ampliamente en respuesta a cambios en la temperatura del agua.

La Bioenergética o Energética Nutricional consiste en el estudio del balance entre el aporte dietario de energía y los gastos y ganancias, y es la base necesaria para la consecución de un régimen dietario equilibrado y adecuado a un determinado ambiente físico. La definición completa de las necesidades nutritivas y energéticas depende del conocimiento de la proporción en que la energía contenida en los componentes de una dieta es catabolizada como combustible o anabolizada para constituir reservas tisulares.

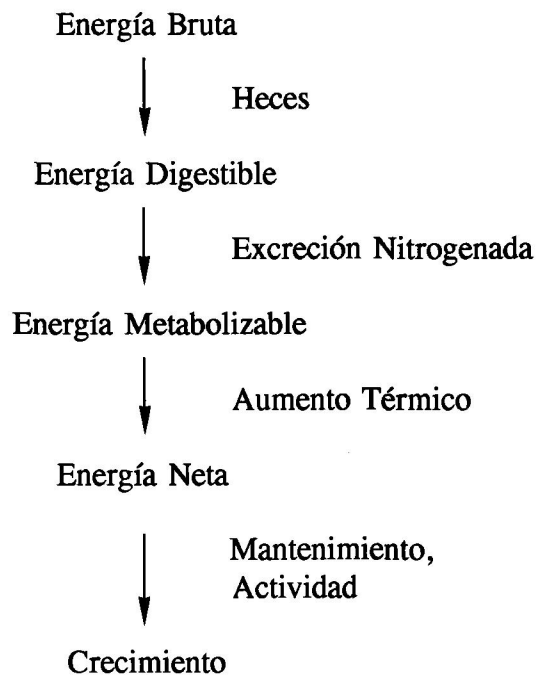
Parte del éxito de un cultivo de peces depende del aporte de dietas que contengan niveles adecuados de energía y un balance apropiado de nutrientes, que permitan el crecimiento más efectivo del animal así como el mantenimiento de su salud.

2.3.1. FUENTES ENERGETICAS DE LA DIETA

La energía es el producto terminal de los nutrientes absorbidos por el animal, cuando se oxidan y metabolizan. Todos los componentes orgánicos de una dieta para peces liberan calor tras su combustión, es decir, son fuentes potenciales de energía. Fisiológicamente, los lípidos y las proteínas constituyen un componente importante de la estructura de un pez, si bien, la necesidad de energía calorífica puede evitar su

incorporación a los tejidos y obligar su catabolismo como fuentes energéticas. Por tanto, la utilización de la energía y los nutrientes de cada dieta dependerá del nivel de su ingesta y de su composición.

Se ha desarrollado un esquema, convencionalmente aceptado, que describe las pérdidas que pueden ocurrir durante la utilización de la energía de la dieta para el crecimiento tisular de los animales. En el caso de los peces el esquema puede resumirse como:



2.3.1.1. ENERGIA BRUTA

La energía bruta de un alimento se mide por su combustión en atmósfera de oxígeno comprimido. La energía bruta ingerida por un animal es el producto de su consumo de alimento por el calor de combustión del mismo.

Existe una estandarización de los valores medios del calor de combustión de proteína, grasa y carbohidratos : 23.6, 39.5 y 17.2 KJ/g respectivamente (Brett y Groves, 1979). Los valores de EB de los carbohidratos y las proteínas son muy similares (17.2 y 23.6 KJ/g, respectivamente), sobre todo si se tiene en cuenta que la excreción de la energía de productos nitrogenados (fundamentalmente amoníaco) reduce la energía útil de la proteína de la dieta a 19.6 KJ/g aproximadamente, mientras que el de las grasas es bastante más alto (39.5 KJ/g); según esto, podemos deducir que la variación en el contenido graso de un alimento tendrá una gran influencia sobre su contenido en energía bruta, no ocurriendo lo mismo en el caso de variaciones en el contenido en carbohidratos y proteínas.

También la concentración de minerales de un alimento influye sobre su energía bruta, ya que los componentes inorgánicos no son combustibles. Esto explica las diferencias existentes entre ciertos tipos de alimentos, como es el caso de las harinas de pescado usadas en la fabricación de piensos para peces, cuyo contenido en cenizas puede variar ampliamente y, por tanto, su contenido en energía bruta.

2.3.1.2. ENERGIA DIGESTIBLE

Para que los componentes de un alimento puedan llegar a ser utilizados como combustibles por el animal deben, previamente, ser digeridos y absorbidos en el tracto digestivo. Algunos de estos componentes no son susceptibles a los procesos digestivos y una gran proporción pasa inalterada por el tubo digestivo, para ser eliminada en las heces. La energía contenida en las heces se denomina Energía Fecal (EF). Así, si a la energía bruta del alimento le restamos la energía bruta contenida en heces procedentes de una cantidad unitaria de ese alimento, podemos calcular la Energía Digestible (ED). Es fácil deducir que, en un alimento bien digerido, los valores de energía bruta y digestible serán muy próximos.

La energía digestible de los nutrientes se calculó para salmónidos (Phillips y Brockway, 1959; Phillips, 1969, 1972), cifrando la digestibilidad media de la proteína

animal y vegetal en un 90%, la de la grasa en un 85% y la de los carbohidratos en un 40%. No obstante, éstos son valores medios y, para distintos ingredientes, existen amplias desviaciones de estas cifras que, como ya se ha indicado, pueden también verse afectadas por múltiples factores que inciden sobre la utilización digestiva de una misma dieta.

Además del alimento no digerido, las heces contienen residuos de origen corporal no reabsorbidos, que constituyen el llamado componente fecal endógeno. Estos residuos, que no proceden del alimento sino de la actividad metabólica del animal, se denominan residuos metabólicos y su calor de combustión energía metabólica fecal (EMF). Con estos valores de EMF se puede calcular la energía digestible corregida, que será mayor que la aparente, según la siguiente expresión:

$$ED \text{ aparente} = EB - EF$$

$$ED \text{ corregida} = EB - (EF - EMF)$$

Las pérdidas de energía vía fecal son las más importantes de las sufridas por la energía bruta ingerida. Por tanto, los valores de digestibilidad y de energía digestible de los nutrientes deberían ser utilizados para el cálculo de los nutrientes disponibles a la hora de formular una dieta, ya que las dietas comerciales para piscicultura conllevan una pérdida fecal de entre un 28 a un 40% de la energía bruta dietaria y, en el caso de algunas materias primas, hasta de un 60%. Los salmónidos digieren muy bien la proteína y la grasa, los azúcares simples y el almidón hidrolizado o cocido también son bien digeridos; sin embargo, el almidón crudo es muy poco digerido por esta especie (Cho y Slinger, 1979), por lo que, según Cho *et al.* (1982), el nivel de inclusión de almidón crudo no se debería considerar en los cálculos previos de los valores energéticos de una dieta formulada.

2.3.1.3. ENERGÍA METABOLIZABLE

La mayor parte de la energía digestible es utilizada para mantenimiento del pez y retenida para producir crecimiento.

El 15 - 25% de la energía digestible de una dieta equilibrada se pierde como excreción de nitrógeno vía branquial (EZ) y renal (EU) y como incremento calórico de la alimentación (ICA). Estas pérdidas son muy importantes para la energética nutricional y la formulación de dietas, porque la cantidad de nitrógeno y calor perdidos son muy dependientes del equilibrio entre la proteína digestible y la energía digestible de la dieta. Cuanto más proteína se utilice como fuente de energía, más nitrógeno se excretará vía branquial y renal.

No se duda de que una gran proporción de las necesidades de mantenimiento de un pez es aportada por energía proteica, posiblemente porque muchos peces pueden usar preferentemente las proteínas como fuente de energía. Pero la proporción de proteína dietaria que es utilizada como fuente de energía puede reducirse manipulando la relación de proteína y energía digestibles en la dieta además de, por supuesto, la calidad de la proteína de la dieta.

La energía metabolizable (EM) es la porción de la energía digestible que es capaz de sufrir transformaciones dentro del organismo y representa la cantidad de energía que es realmente utilizable para la producción de calor y crecimiento por el organismo.

La estimación de la EM necesita la medida cuantitativa de las pérdidas de energía no fecal (EU + EZ), y se determina según la siguiente expresión:

$$EM = ED - (EU + EZ)$$

Una vez atravesada la pared del intestino, el nitrógeno dietario absorbido es transportado a través del torrente sanguíneo a los distintos órganos. Cualquier exceso de aminoácidos dietarios, por encima de las necesidades para síntesis proteica, es desaminado. El amoníaco que se produce a través de las distintas rutas metabólicas supone el 55 al 85% del nitrógeno total excretado por el pez (Walton y Cowey, 1982). De los otros productos catabólicos, la urea parece ser el segundo catabolito nitrogenado en importancia (5 al 15% del total), al menos en teleósteos de agua dulce.

Correlacionar las pérdidas de nitrógeno no fecal con una determinada ingesta de nitrógeno es extremadamente difícil en la práctica, sobre todo por la necesidad de hacer medidas continuas de las pérdidas nitrogenadas en un sistema con una renovación continua de agua (Kaushik, 1980).

Jobling (1983), basándose en los valores teóricos de energía metabolizable de proteína (3.9 kcal), grasa (8 kcal) y carbohidratos (1.6 kcal) propuestos por Phillips (1969), sugiere que, cuando se conocen la energía digestible y la digestibilidad de la proteína, se puede hacer una estimación de la energía metabolizable mediante lo que él denomina una "solución de compromiso", según la cual: $EM (KJ/g) = ED - 3.98 \times g \text{ PD}$. Pero, según Cho y Kaushik (1985), es erróneo estimar la EM de este modo, porque la cantidad de proteína digestible (PD) catabolizada no es conocida sin las medidas de pérdidas extrafecales de nitrógeno y/o nitrógeno de la carcasa.

Hay pocos datos acerca de la influencia de factores bióticos sobre la energía metabolizable, no obstante hay alguna información sobre la excreción post-prandial de nitrógeno en larvas y juveniles de peces. Kaushik y Dabrowski (1983) encontraron que, en carpas juveniles, el rango de valores de las pérdidas extrafecales de energía estaba entre 0.9 y 5% de la energía bruta.

También se ha encontrado una relación entre los valores de pérdidas extrafecales y los niveles de ingesta y frecuencia de alimentación. Así, Kaushik (1980) estudiando este efecto en carpa y trucha arco iris, vió que las pérdidas extrafecales representaban en torno al 5.7% de la energía ingerida si los peces eran alimentados "ad libitum",

mientras que con una alimentación forzada estos valores eran de 6.3 - 6.9%.

En carpa se observa un aumento de las pérdidas extrafecales de nitrógeno cuando aumenta el desequilibrio entre aminoácidos (disminuye la calidad proteica) de una dieta con caseína en la que se sustituye la proteína desde 0 a 30% con gelatina (Watanabe *et al.*, 1983). Los mismos autores encontraron que cuando la trucha era alimentada con dietas desequilibradas, en cuanto a su contenido en aminoácidos, las pérdidas no fecales fueron altas (4-7% de la energía ingerida).

Chakraborty *et al.* (1992), manteniendo carpas en cámaras metabólicas, encontraron que la excreción de amonio, como porcentaje de alimento ingerido, aumentaba al aumentar la proteína dietaria, pero disminuía con un aumento en el nivel de la ración.

En cuanto al posible efecto de la temperatura sobre estos parámetros, se ha visto que un aumento de la misma desde 10° a 18°C no afecta a las pérdidas fecales o no fecales en la trucha (Kaushik, 1981). El efecto beneficioso del aumento de la temperatura sobre el crecimiento fue mediado sólo por un aumento en los niveles de ingesta. Sin embargo, Watanabe *et al.* (1983) encontraron que la temperatura del agua y la calidad de la proteína afectaban a las pérdidas no fecales de energía en la trucha, aumentando éstas al aumentar la temperatura de 7 a 16°C y al aumentar el desequilibrio entre aminoácidos.

Estos resultados indican que la excreción de nitrógeno branquial y urinaria se ven influenciadas, entre otros factores, por la calidad de la proteína dietaria, el nivel de ingesta y la temperatura del agua. Por esta razón, la EM de las dietas no es una medida de la disponibilidad de los nutrientes dietarios, sino una buena medida de la utilización de la dieta bajo unas condiciones de manejo determinadas.

Los estudios de balance energético deben corroborarse con los análisis de composición corporal. En muchos de estos estudios, es difícil obtener una concordancia entre los valores de retención esperados y medidos, tanto porque no son medidos de

forma simultánea, como porque las pérdidas no fecales son ignoradas.

Las relaciones de EM/ED, que se han calculado a partir de los datos de NRC (1981) y Smith *et al.*, (1980) para diferentes materias primas usadas en dietas para salmónidos, oscilan entre 0.72 y 0.93 (Cho *et al.*, 1982). Muchos de estos valores se consideran demasiado bajos y puede deberse a un aumento de las pérdidas metabólicas, debido al estrés y a un posible balance negativo de nitrógeno en los peces alimentados con un ingrediente dietario individual y confinados en cámaras metabólicas. Se ha visto que la misma harina de pescado puede ser utilizada de diferente modo, cuando es ingerida por peces sometidos a diferentes condiciones de manejo (Cho y Kaushik, 1985), igualmente se ve que, dependiendo de la proporción proteína/grasa en la dieta, la proteína va a ser utilizada en mayor o menor grado con fines energéticos (un nivel bajo de grasa provoca una mayor oxidación de la proteína para satisfacer las necesidades energéticas). Según esto, Forbes (1933, citado por Maynard *et al.*, 1979) indicó que: "las materias primas expresan sus valores de energía neta característicos, sólo si son componentes de una ración nutricionalmente completa y lo mismo se puede aplicar a la EM".

2.3.2. DESTINO DE LA ENERGIA METABOLIZABLE

Los animales liberan calor como consecuencia de la transformación de los nutrientes de la dieta en componentes tisulares, del reciclamiento de los propios tejidos y de la actividad física. Esta liberación de calor es lo que se conoce como Tasa Metabólica, cuyo valor dependerá de la actividad del animal. Derivado de lo anterior, se encuentra el término de Tasa metabólica basal que es la actividad metabólica mínima necesaria para mantener la estructura y función de los tejidos corporales. El valor de la tasa metabólica aumentará con cualquier actividad.

La tasa metabólica se ve incrementada como consecuencia de la ingestión de alimento, debido al trabajo extra que representa la ingestión, digestión y utilización del mismo. Este incremento se conoce como Incremento Calórico de la Alimentación o

Acción Dinámica Específica. Otro factor que incrementa la tasa metabólica es la actividad física, debido a las necesidades energéticas que implica la actividad muscular.

Todos estos componentes del metabolismo animal dan lugar a una liberación de energía en forma de calor a partir de la energía metabolizable .

2.3.2.1. ENERGIA NETA E INCREMENTO CALORICO DE LA ALIMENTACION

La pérdida de energía, como consecuencia de la ingestión de alimento (ICA), se hace a expensas de la energía metabolizable y el resto de energía que queda disponible es lo que se conoce como energía neta (EN). La energía neta es la cantidad total de energía para mantenimiento y para producción y se considera la medida real del valor dietario, ya que elimina, del valor de energía ingerida, todas las pérdidas de energía derivadas de la alimentación. Los factores que contribuyen al ICA son los procesos digestivos y absorptivos, la transformación e interconversión de los sustratos y su retención en los tejidos y la formación y excreción de los desechos metabólicos (Kleiber, 1975). Los gastos energéticos asociados con la ingestión y digestión del alimento son muy pequeños en comparación con los asociados al trabajo metabólico (Brody, 1945).

Se ha visto un importante efecto de la ingesta proteica sobre el incremento calórico. En truchas arco iris alimentadas con dietas conteniendo un 6% de grasa y un 36 o un 47% de proteína digestible, se produjo un ICA similar; sin embargo, cuando se aumentó el nivel graso de la dieta con 36% de proteína digestible se produjo una reducción sustancial en el ICA, lo que indicaba que la cantidad de proteína oxidada disminuía con un aumento de la energía dietaria no proteica. El mayor incremento calórico encontrado con las dietas altas en proteína digestible se debe, presumiblemente, al mayor influjo de aminoácidos proporcionado por estas dietas (Cho, 1982; Cho *et al.*, 1982).

Se han realizado diversos estudios en peces tendentes a separar los aspectos

bioquímicos del ICA de aquellos de naturaleza física. Estos estudios se han basado en la administración a los animales de comidas ficticias o formuladas con materiales no digeribles. Smith *et al.* (1978a) en trucha arco iris y Jobling y Davies (1980) en platija encontraron que ni la alimentación ficticia, ni la caolina incrementaban la tasa metabólica basal de los peces. Cho y Slinger (1980) encontraron que la alimentación ficticia provocaba en trucha arco iris un aumento de la producción de calor, pero este aumento sólo suponía en torno al 1 - 2% del incremento observado cuando los animales se alimentaban normalmente.

2.3.2.2. REQUERIMIENTOS ENERGETICOS PARA MANTENIMIENTO

Los peces, como el resto de los seres vivos, requieren de un aporte continuo de energía para realizar aquellas funciones necesarias para el mantenimiento de la vida, independientemente de que el animal esté o no consumiendo alimento. Estos requerimientos para mantenimiento son, fundamentalmente, el metabolismo basal, la regulación de la temperatura corporal en el caso de homeotermos y la actividad involuntaria o de reposo. El conjunto de todos estos factores es lo que constituye la tasa metabólica basal que se mide cuando el animal se encuentra en fase post-absortiva, en estado de reposo muscular y a una temperatura termoneutra. En el caso de los peces, el factor temperatura se elimina de la definición, pero se hace necesario especificar a qué temperatura se determina la tasa metabólica.

Brett (1972) mostró que las necesidades de mantenimiento de los poiquilotermos eran de 10 a 30 veces más bajas que las de mamíferos. En cuanto a la condición de reposo de los animales, en peces es más difícil de asegurar y, normalmente, se hace una extrapolación a cero, a partir de valores obtenidos con peces nadando a distintas velocidades.

Hay algunos trabajos tendentes a medir la tasa metabólica en peces. Cho *et al.* (1976) encontraron que truchas arco iris de 96-145 g de peso, en reposo y en ayunas, a 15°C, liberaban 59-63 KJ/Kg por día como calor, lo que equivale a 40 KJ/Kg de peso

corporal elevado a la potencia 0.824. Smith *et al.* (1978b) en la misma especie, pero con animales de 1 a 57 g de peso, encontraron que a 15°C la producción de calor era de 204 KJ/Kg de peso corporal elevado a la potencia 0.75.

También se ha visto un efecto de la temperatura del agua sobre la producción de calor. Así, Cho y Slinger (1980) observaron, en truchas arco iris de 47-136 g de peso, que un aumento de la temperatura del agua, desde 7.5 a 10°C, produjo una duplicación de la producción de calor. El aumento ulterior a 15°C produjo un incremento adicional del 50% en la tasa de producción de calor.

2.3.2.3. CRECIMIENTO Y RETENCION ENERGETICA

La energía metabolizable, que no es disipada como calor, es retenida en el cuerpo en forma de nuevos elementos tisulares. En animales en crecimiento, parte de esa energía se retiene en forma de proteína y parte en forma de grasa, pero cuando el animal se va acercando a su madurez la mayor parte de esa energía se almacena como depósito graso. La importancia relativa de los depósitos proteico y graso, además de la madurez del animal, depende de muchos factores. El balance en aminoácidos disponibles de la proteína dietaria, así como la proporción en que la energía ingerida excede a la eliminada como calor, son los principales factores. Proteínas con un alto valor biológico promueven mayor deposición proteica que las de peor calidad. Los excesos moderados de ingesta energética, respecto a la eliminada como calor, dan lugar a una mayor retención energética en forma de proteína, pero cuando el exceso en la ingesta energética es mayor, aunque la cantidad total de proteína depositada aumenta, la retención energética en forma de grasa se realiza a un ritmo mayor, debido a lo cual, la ingesta creciente de energía se traduce en un incremento de la retención de la misma en forma de grasa.

La temperatura del agua también influye sobre las proporciones de energía dietaria retenida y disipada. Cho y Slinger (1980) encontraron, en la trucha arco iris, que la elevación de la temperatura del agua de 7.5 a 10°C aumentaba la retención

energética del 44 al 53% de la energía digestible ingerida. La retención energética también se ve influenciada por la composición de la dieta. Cho *et al.* (1976) demostraron que un aumento de la grasa digestible de la dieta (de 13 a 22%) provoca, en truchas arco iris, un aumento de la retención energética. La alimentación de truchas arco iris en crecimiento, con dietas con un amplio rango de niveles de proteína y grasa, mostró una retención proteica máxima y una relación óptima proteína/grasa con dietas que contenían 35% de proteína y 15-20% de grasa (Watanabe *et al.*, 1979). Ellis y Reigh (1991) alimentando al tamboril rojo (*Sciaenops ocellatus*) con dietas con distintos niveles de energía bruta y niveles crecientes de lípidos y carbohidratos, encontraron que la mayor retención energética y proteica se producía con una dieta de un 10% de lípidos y 24% de carbohidratos.

En peces, particularmente en los cultivados, hay pocos estudios sobre la retención exacta de la energía dietaria. Además, resulta muy difícil comparar los resultados obtenidos en peces con los de otros animales debido, además de a la influencia de la temperatura, a las dificultades para estimar la cantidad exacta de ingesta. Para poder comparar datos con las mismas especies de peces se han definido las llamadas curvas de crecimiento que se consideran normales para condiciones particulares. Así, Cho *et al.* (1985) establecieron curvas de crecimiento para truchas arco iris, a tres temperaturas diferentes y bajo las mismas condiciones de laboratorio, encontrando que, mientras que a 10°C solo se alcanzaba el peso de 4Kg/100 peces a las 20 semanas, a 15°C se alcanzó ese peso a las 12 semanas. Resultados similares se han obtenido trabajando a nivel de piscifactoría. Ya que los costes de mantenimiento son fijos para una determinada temperatura, la magnitud de retención energética y, por tanto, de crecimiento, dependen del nivel de ingesta energética con la dieta. De todo esto se deduce que los regímenes de cultivo que promuevan altos niveles de ingesta, mediante la provisión de dietas equilibradas, así como unas condiciones que minimicen el estrés de los animales, promoverán un crecimiento más rápido y una mayor eficacia neta en la retención energética (Cho, 1987).

En cuanto al cálculo de la retención energética, hay que destacar el hecho de que la metodología analítica, empleada con frecuencia en los estudios de nutrición de peces,

no está exenta de aspectos criticables (Jobling, 1983), sobre todo en lo que se refiere a la aceptación de determinados factores de conversión estándar, que pueden dar lugar a serios errores de método e interpretación de resultados.

Casi de modo general, la retención de energía y el depósito de nuevos tejidos se traduce en un incremento de peso del animal, siendo la ganancia de peso, en el caso de animales jóvenes, un índice fiable de la calidad de los regímenes de alimentación y mantenimiento. Sin embargo, la ganancia de peso no nos permite hacer una estimación cuantitativa de la retención energética ya que, en primer lugar, el depósito de grasa reduce el contenido de agua del cuerpo con lo que el valor energético por unidad de peso cambiará y, en segundo lugar, porque el contenido energético por unidad de peso de proteína y grasa es distinto (23.4 y 39.5, respectivamente). La grasa es normalmente depositada en el tejido adiposo en asociación con una relativamente pequeña cantidad de agua, resultando el calor de combustión del tejido adiposo de peces de 31 KJ/g, por el contrario, la proteína se deposita en vísceras y músculo asociada a una gran cantidad de agua, siendo el calor de combustión del tejido muscular del pez de 6 KJ/g (Cho, 1987).

La interpretación de los datos de productividad se complica aún más debido a la diferente complejidad de los procesos metabólicos por los que la energía es depositada en forma de proteína o de grasa; mientras que la, relativamente simple, síntesis de grasa tiene una eficacia del 74%, la síntesis de proteína, mucho más compleja, sólo es eficaz en un 44%, como fue demostrado por Pullar y Webster (1977) para ratas, y en un 40-50% para la trucha arco iris según Cho y Watanabe (1986). Debido a esto, resulta imposible igualar ganancia de peso con retención energética sin una estimación simultánea de la composición corporal (Cho, 1987).

Las estimaciones del balance energético pueden verse modificadas si se hacen en periodos de reproducción, ya que en estos casos se produce una redistribución de la energía tisular para cubrir las demandas en cuanto a síntesis y almacenamiento de nuevo material tisular necesario durante estos periodos.

Para el cálculo del contenido energético corporal se pueden emplear dos métodos: uno directo, mediante combustión de muestras en bomba calorimétrica, y otro indirecto basado en el análisis de componentes (proteína y lípidos), seguido de la aplicación de valores calóricos estándar a cada uno de ellos. Los valores medios de los factores de conversión comunmente establecidos para grasa y proteína pueden no ser apropiados para todos los materiales biológicos y su uso puede introducir errores importantes. De hecho, los estudios de Craig *et al.* (1978) y Beukema y Bruin (1979) ya indican que el valor calórico, determinado en bomba calorimétrica, de los lípidos extraídos de peces, sugiere que el factor de conversión de 9.45 Kcal/g (39.54 KJ/g), habitualmente empleado, es demasiado alto y que sería más apropiado un valor de 8.5 Kcal/g (35.5 KJ/g) para estos lípidos.

2.3.3. CALORIMETRIA DE PECES

La energía obtenida del catabolismo de los nutrientes es, en último extremo, liberada en forma de calor, por lo que el balance energético puede ser determinado midiendo la producción de calor o estimando los cambios en el contenido de energía corporal a partir del peso y la composición de la carcasa.

La calorimetría animal es el método preferido por los nutriólogos para medir el balance energético de un animal durante el corto periodo de tiempo en el que una comida individual ejerce su efecto. Clásicamente, por calorimetría se entiende la medida del flujo energético entre dos objetos, en este caso desde el animal al ambiente.

Smith *et al.* (1978 a,b) diseñaron un calorímetro directo para medir la producción de calor por los peces, pero a la vista de los datos obtenidos, se deduce que la elevada capacidad calorífica del agua hace que este tipo de calorímetros sean menos sensibles a los cambios en la tasa metabólica que los métodos basados en la medida del consumo de oxígeno (Brett y Groves, 1979). Otros autores también han usado la calorimetría directa (Van Waversveld *et al.*, 1988).

La determinación directa de la producción de calor requiere de la medida de los pequeños cambios en la temperatura del agua, que son consecuencia de los cambios en la tasa metabólica provocados por la ingesta de alimento. Un método indirecto de estimar la producción de calor depende de la estequiometría del catabolismo de los nutrientes y el consumo de oxígeno, de modo que se asocia el consumo de 1 g de oxígeno con la liberación de 13.6 KJ de energía. La aplicación de este principio a los animales terrestres, y la medida del consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono, permiten el cálculo del cociente respiratorio (dióxido de carbono producido/oxígeno consumido). A partir de estos cocientes respiratorios se puede calcular la proporción en que los carbohidratos y las grasas están siendo oxidados, dado que sus cocientes respiratorios respectivos están caracterizados (1.0 y 0.7).

Se han descrito algunos calorímetros indirectos aplicables a peces (Brett, 1972; O'Hara, 1971; Solomon y Brafield, 1972; Pierce y Wissing, 1974; Cho *et al.*, 1975; Guinea y Fernández, 1991). Uno de los inconvenientes de la mayoría de estos calorímetros es que la medida del consumo de oxígeno por el pez se realiza bajo ciertas condiciones de restricción física. Además, una descripción completa del balance energético de un pez necesita la medida de la ingesta de alimento, junto con la de las pérdidas fecales y de otras excretas, para permitir calcular el reparto de la energía sobre la base de ingesta de energía digestible o metabolizable, y pocos de estos calorímetros incorporan esta posibilidad.

El respirómetro diseñado por Cho *et al.* (1975), permite la medida del consumo de oxígeno por el pez en condiciones de reposo y en tanques experimentales estándar. En este respirómetro se mide la concentración de oxígeno a la entrada y la salida del tanque, que, multiplicada por el flujo de agua, indica el grado de consumo de oxígeno por los peces.

Para propósitos prácticos, hay ocasiones en las que puede no ser útil determinar de modo directo las pérdidas no fecales y la producción de calor, dado lo complejo de las determinaciones. Cho y Kaushik (1985) desarrollaron un esquema simple basado en análisis comparativos de la composición corporal en ensayos de pre y post-alimentación

y de pre y post-ayuno. En general, esta técnica es más fácil y precisa de aplicar en peces que en animales terrestres, dado el gran número de individuos que pueden ser muestreados y fácilmente homogenizados para los análisis pertinentes. El procedimiento para la determinación de las energías neta y metabolizable, así como de la producción de calor sería:

1. Medida de la ingesta de N digestible (ND) y energía digestible (ED).
2. Medida de la ganancia de N (NR) y energía (ER) corporal.
3. Medida de las pérdidas de N (NRa) y energía (ERa) corporal durante el ayuno.
4. Cálculo de:
 - Pérdidas extra-fecales de N ($NU + NZ$) = $ND - NR$
 - Pérdidas extra-fecales de energía ($EU + EZ$) = $25(NU + NZ)^*$
 - Energía metabolizable (EM) = $ED - (EU + EZ)$
 - Producción de calor (EC) = $ED - ER$
 - Incremento calórico (ICA) = $EM - ER - ERa$
 - Energía neta (EN) = $EM - ICA$

* 25 KJ por g de N amoniacal/N ureico

Este último sistema es conocido como balance energético corporal y requiere que las observaciones se realicen durante un periodo apreciable de la fase de crecimiento del animal.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1.1. INFLUENCIA DEL SISTEMA DE RECOGIDA DE HECES, DEL MARCADOR INERTE Y DEL AGLUTINANTE DIETARIO SOBRE LA DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

ENSAYO 1. INFLUENCIA DEL METODO DE RECOGIDA DE HECES SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 38 g (los correspondientes al Ensayo 7).

Dietas: Las correspondientes al Ensayo 7 (Tabla 3.6).

Duración: Una semana de adaptación. Seis semanas de periodo experimental.

En el caso de la dieta control (C), durante las tres primeras semanas se recogieron las heces con el Sistema Guelph modificado, a continuación se cambió la columna de sedimentación por una igual a la del Sistema Guelph y se recogieron las heces durante dos semanas, al finalizar éstas, se volvió a poner la columna de sedimentación modificada y se recogieron las heces durante la última semana. Finalmente, se realizó la recogida de heces, por presión abdominal, al final del periodo experimental en todos los animales. En el caso de las dietas experimentales, la recogida de heces se realizó exclusivamente mediante el Sistema Guelph modificado y al final del experimento se realizó la toma de muestras de heces por presión abdominal.

Parámetros e índices determinados: Cuantificación de las heces recogidas mediante las dos columnas de sedimentación. Cálculo de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de los nutrientes, a partir de las heces recogidas por los distintos métodos.

ENSAYO 2. INFLUENCIA DEL MARCADOR INERTE DIETARIO SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 38 g (los correspondientes al Ensayo 7).

Dietas: Las correspondientes al ensayo 7, a las que se añadieron Cr_2O_3 y sílice, como marcadores exógenos, de cara a la realización de este ensayo (Tabla 3.6).

Duración: Una semana de adaptación. Seis semanas de periodo experimental.

Indices determinados: Cálculo de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de proteína, grasa, MELN, hidratos de carbono y energía, usando Cr_2O_3 y sílice, como marcadores exógenos, y fibra bruta, como marcador endógeno.

ENSAYO 3. INFLUENCIA DE DIFERENTES AGLUTINANTES DIETARIOS SOBRE EL USO DIGESTIVO DE LOS NUTRIENTES

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 38 g.

Dietas: Tres dietas fabricadas con harina de pescado, de una composición general de 42% proteína, 12% grasa y 20% de hidratos de carbono (Tabla 3.5), a cada una de las cuales se le añadió (0.5%) un aglutinante dietario: Alginato sódico (dieta ALG), carboximetil celulosa (dieta CMC) y Carbapol 941 (dieta C941).

Duración: Una semana de adaptación. Tres semanas de periodo experimental.

Parámetros e índices determinados: Evaluación de incremento de peso, ingesta e índices de conversión del alimento y cálculo de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de proteína, grasa, MELN, materia orgánica y minerales (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} y Cu^{2+}) de cada una de las dietas.

3.1.2. CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA MEDIANTE EL METODO DE SUSTITUCION DE UNA DIETA DE REFERENCIA. COMPROBACION MEDIANTE CONTROL CRUZADO

ENSAYO 4.

Animales: truchas arco iris de un peso medio inicial de 38 g (los correspondientes al Ensayo 7).

Dietas: Dos dietas en las que la totalidad de la proteína es aportada por la harina de pescado (C) o la caseína (CA100) y una dieta en la que la proteína es aportada por una mezcla de proteína de harina de pescado y caseína en proporción 60/40 (CA40), (Tabla 3.6).

Duración: Una semana de adaptación. Seis semanas de periodo experimental. Recogida de heces durante todo el periodo experimental.

Parámetros e índices determinados: Cálculo indirecto del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína de harina de pescado y caseína, usando como control cruzado la dieta CA40. Comparación con los CDA directos, obtenidos a partir de las heces procedentes de las dietas C y CA100.

3.1.3. DETERMINACION DE LA EXCRECION ENDOGENA DE PROTEINA Y CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD VERDADERO DE LA PROTEINA DE LA DIETA

ENSAYO 5.

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 40 g.

Dietas: Se formula una dieta carente de proteína, de composición general: 25% grasa y 50% de hidratos de carbono.

Duración: Una semana de adaptación. Dos semanas de periodo experimental.

Parámetros determinados: Análisis de las heces para la determinación del contenido en nitrógeno. Cálculo del Coeficiente de Digestibilidad Verdadero de la proteína de las dietas del Ensayo 7.

3.1.4. INFLUENCIA DEL METODO DE DETERMINACION DEL VALOR CALORICO CORPORAL SOBRE LA EVALUACION DEL RENDIMIENTO ENERGETICO DE LA DIETA

ENSAYO 6.

Animales: Los correspondientes al Ensayo 7.

Dietas: Las correspondientes al ensayo 7.

Duración: Una semana de adaptación. Seis semanas de periodo experimental.

Parámetros e índices determinados: Determinación del valor calórico corporal mediante combustión de muestras de animales en bomba calorimétrica. Determinación del valor calórico de la grasa y la proteína corporales mediante combustión de ambos componentes en bomba calorimétrica. Cálculo de la retención energética utilizando los valores calóricos obtenidos por los dos métodos descritos, así como con los valores calóricos estándar.

3.1.5. VALORACION NUTRITIVA DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS. REPERCUSIONES NUTRITIVAS DERIVADAS DE SU INCLUSION COMO FUENTES DE PROTEINA SUSTITUYENDO PARCIAL O TOTALMENTE A LA HARINA DE PESCADO

ENSAYO 7.

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 38 g.

Duración: Una semana de adaptación. Seis semanas de periodo experimental.

Dietas: Ocho dietas experimentales con una composición general de: 42% proteína, 12% grasa y 20% hidratos de carbono (Tabla 3.6). En dos de ellas, la única fuente de proteína fué la harina de pescado (C) o la caseína (CA100) respectivamente. Seis dietas en las que la proteína de harina de pescado fué sustituida en un 40% por harinas de: algodón (A), altramuz (ALT), girasol (G), gluten de maíz (GL), soja (S) o caseína (CA40).

Como ya se ha indicado, estas dietas, así como los animales a los que les fueron suministradas, también han sido la base de los Ensayos 1, 2, 4 y 6.

Parámetros e Índices determinados: Ingesta, incremento de peso, índices de conversión del alimento, evaluación del uso digestivo de los macronutrientes y energía, evaluación metabólica y balance energético.

3.1.6. PROCEDIMIENTOS ENCAMINADOS A LA MEJORA DE LA UTILIZACION NUTRITIVO-ENERGETICA DE LAS DIETAS

ENSAYO 8. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN COMPLEJO MULTIENZIMATICO COMERCIAL (KENZYME) SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVA DE LA DIETA

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 40 g.

Duración: Una semana de adaptación. Tres semanas de periodo experimental.

Dietas: Se fabricaron una dieta control (C₂), en la que la proteína era aportada por la harina de pescado, y cuatro dietas experimentales (Tabla 3.7) en las que la harina de algodón sustituía en un 40% a la proteína de harina de pescado; a tres de estas dietas se les añadió un preparado multienzimático comercial (KEMZYME) a distintas concentraciones (0.04, 0.12 y 0.36%) siendo las dietas AK₁, AK₂ y AK₃, respectivamente. La cuarta dieta de las fabricadas con algodón no contenía preparado multienzimático (A₂). Las dietas se formularon con una composición general de 42% de proteína, 12% de grasa y 20% de hidratos de carbono.

Parámetros e Índices determinados: Ingesta, incremento de peso, índices de conversión del alimento, utilización digestiva y utilización metabólica.

ENSAYO 9. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN PREPARADO COMERCIAL ("NUTRIENTES DE AUTOMULTIPLICACION, TIPO B") SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVO-METABOLICA DE LA DIETA

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 40 g.

Duración: Una semana de adaptación. Ocho semanas de periodo experimental.

Dietas: Dos dietas fabricadas (Tabla 3.8). Una dieta se usó como control (C₃), y a la otra (C₃B) se le añadió un preparado comercial de "Nutrientes de Automultiplicación, Tipo B", en una proporción de 1 ml/3 Kg dieta.

Parámetros e índices determinados: Ingesta, incremento de peso, índices de conversión del alimento, utilización digestiva, utilización metabólica y balance energético.

ENSAYO 10. INFLUENCIA, SOBRE LA UTILIZACION DE DIETAS CON HARINA DE GIRASOL, DE LA FORMULACION EN ENERGIA DIGESTIBLE Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 40 g.

Duración: Una semana de adaptación. Ocho semanas de periodo experimental.

Dietas: En base a los resultados obtenidos en el Ensayo 7, se formularon tres dietas (Tabla 3.9) isocalóricas en energía digestible. Una control, con harina de pescado como única fuente proteica (C₃) y dos dietas con harina de girasol (G₂ y G₂S) en las que su proteína sustituía en un 40% a la proteína de harina de pescado. La diferencia entre ambas dietas radicó en que una de ellas fué suplementada con Leu, Lys y Met (G₂S), con el fin de que su composición en aminoácidos digestibles fuera semejante al de la dieta control.

Parámetros e índices determinados: Ingesta, incremento de peso, índices de conversión del alimento, utilización digestiva, utilización metabólica y balance energético.

ENSAYO 11. INFLUENCIA DE LA MEZCLA DE DOS FUENTES PROTEICAS VEGETALES Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS SOBRE LA UTILIZACION DE UNA DIETA FORMULADA EN ENERGIA DIGESTIBLE

Animales: Truchas arco iris de un peso medio inicial de 40 g.

Duración: Una semana de adaptación. Ocho semanas de periodo experimental.

Dietas: Se formularon dos dietas isocalóricas en energía digestible (Tabla 3.10). La dieta control (C₃) contenía harina de pescado como única fuente de proteína. La dieta experimental fué formulada utilizando como única fuente proteica una mezcla de glúten

de maíz y harina de girasol (GLGS), asimismo se suplementó con Lys y Met para igualar su composición en aminoácidos digestibles a la de la dieta control.

Parámetros e Índices determinados: Ingesta, crecimiento, índices de conversión del alimento, utilización digestiva, utilización metabólica y balance energético.

3.2. ANIMALES Y MANTENIMIENTO

Se emplearon truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) de un peso medio inicial en torno a los 40 g. Los peces procedían de una piscifactoría local, donde se seleccionaron individualmente atendiendo a su longitud. Una vez en el laboratorio se alojaron en cubas de fibra de vidrio de 360 l donde se mantuvieron durante 5 días a fin de que se recuperaran de los posibles efectos del traslado. Pasado este tiempo, los peces se anestesiaron con Tricaín Metano Sulfonato (MS222, 1:20000), se distribuyeron en lotes de 35-40 animales y se trasladaron al acuario experimental, formado por cubas de fibra de vidrio de 65 l de capacidad (ver descripción de acuarios en el apartado 3.2.1). Las dietas, asignadas al azar, se ensayaron en lotes triplicados de animales.

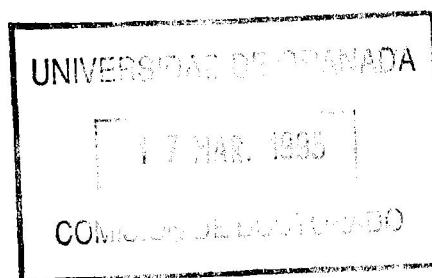
Se estableció un flujo continuo de agua de 2.25 l/min, que era previamente clorada mediante de un filtro de carbón activo. La temperatura del agua se mantuvo a $15 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante todo el periodo experimental, por medio de un termostato introducido en las cubas y conectado a un sistema automático de calefacción y refrigeración del agua.

La oxigenación del agua se realizó mediante difusores situados en cada una de las cubas, provistos de una llave que permitía regular el volumen de salida, y conectados a un soplante de aire (Siemens).

La iluminación de las instalaciones se realizó de forma artificial y mediante un temporizador conectado al sistema de iluminación se estableció un fotoperiodo de 12 h luz/ 12h oscuridad.

3.2.1. ACUARIO EXPERIMENTAL

La estructura de los acuarios experimentales está basada en el Sistema Guelph descrito por Cho *et al.* (1975, 1982) para estudios de digestibilidad, con una modificación que se describirá mas adelante.



Los tanques, de fibra de vidrio y con 65 l de capacidad, cuyas medidas son 55 x 40 x 35 cm, presentan el fondo inclinado de modo que, la parte anterior del tanque es más profunda que la posterior.

Los tanques se agrupan de tres en tres y el drenaje de los mismos se hace de forma común a través de un tubo que discurre por la parte anterior a nivel de la base, las porciones de tubo que quedan dentro de los tanques presentan unas ranuras de unos 3 mm de grosor. Por uno de sus extremos este tubo está cerrado por medio de una llave, y por el otro desemboca en una columna de sedimentación usada para la recogida de heces (Fig. 3.1.a).

En el caso del Sistema Guelph, la columna de sedimentación consiste en un tubo que termina en bisel. De esta zona terminal sale un pequeño tubo de unos 15 mm de diámetro conectado a una goma que se cierra con una pinza. Para recoger las heces se retira la pinza y éstas salen arrastradas por la corriente de agua creada, hasta un tubo de centrífuga de 250 ml de capacidad.

En nuestro caso, y aquí radica la modificación introducida por nosotros, la columna es un tubo recto que, cerca de su parte terminal, presenta una llave. A continuación tiene una pieza donde enrosca un bote de centrífuga de 250 ml. Para la recogida de heces basta con enroscar el bote de centrífuga y abrir la llave, de modo que las heces sedimentan directamente en el bote de centrífuga, y cuando se acaba el periodo de recogida se cierra la llave, se retira el bote y las heces se centrifugan directamente en el mismo bote de recogida (Fig. 3.1.b).

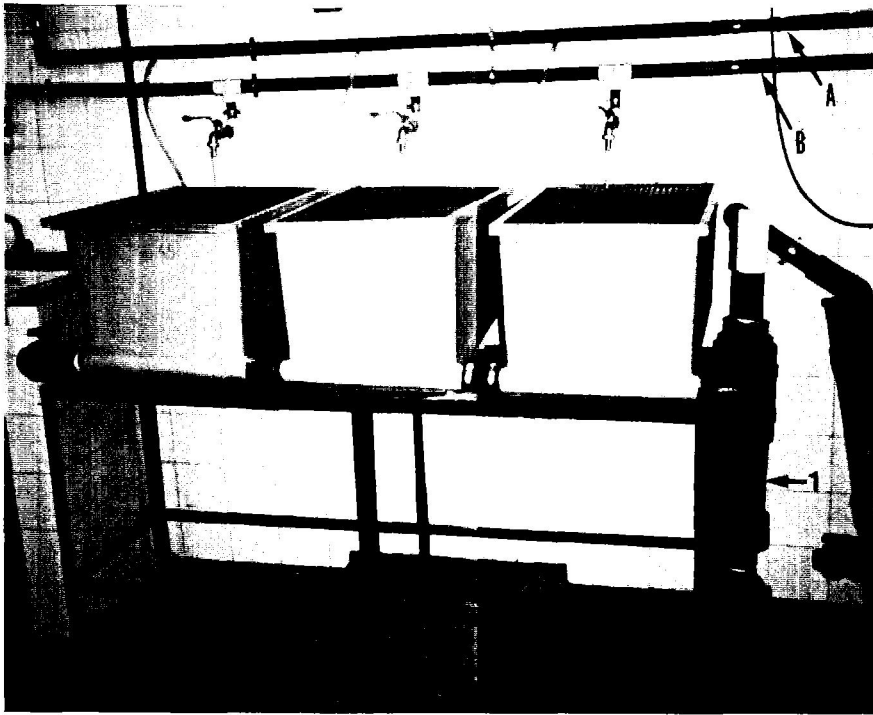
La recogida de heces se realizó diariamente entre las 20:00 y las 9:00 horas. La retirada de los botes de centrífuga se realizó a las 9:00 horas, antes de la primera comida del día.

La renovación del agua se realizó a través de un tubo conectado a la parte superior de la columna de sedimentación en sentido ascendente, cuya altura determinaba el nivel del agua dentro de las cubas.

La limpieza de las unidades se realizó diariamente, dos horas después de la última comida, introduciendo una escobilla a lo largo del tubo perforado y de la columna, previa apertura de las llaves situadas en los extremos de ambas estructuras. La salida del agua a presión, hasta vaciar al menos un tercio del agua de los tanques, aseguraba la eliminación de cualquier residuo, lo cual es imprescindible para la posterior recogida de heces.

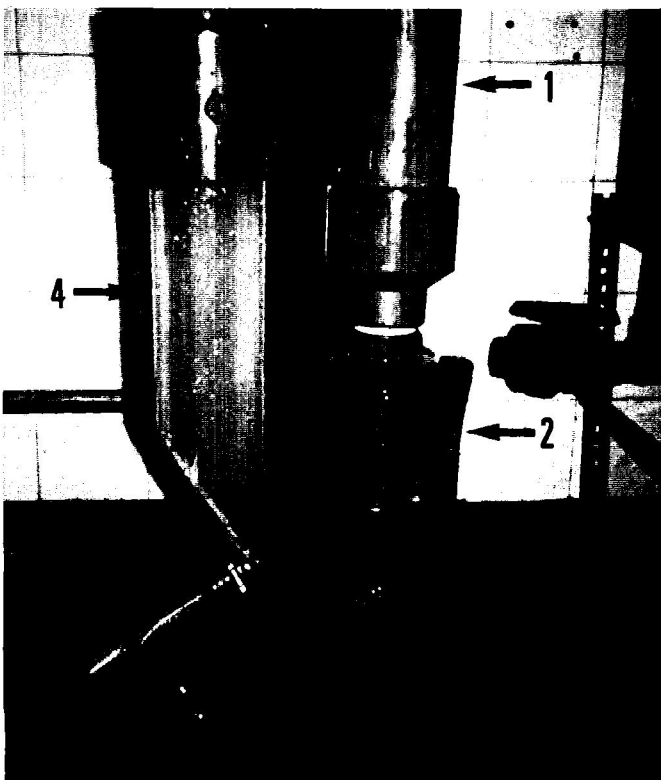
Tanto la entrada del agua como el difusor de aire se situaron en la parte posterior del tanque, que coincide con la mayor elevación del fondo, de modo que la corriente de agua creada arrastrara las heces hacia el tubo perforado y posteriormente hasta la columna de sedimentación. La velocidad del flujo de agua se ajustó de tal forma que se minimizara la sedimentación de las heces en el tubo de drenaje y el tiempo de tránsito a través de él, y se maximizara la recuperación de las mismas en la columna de sedimentación.

3.1.a



A: Toma de aire
B: Toma de agua

3.1.b.



1: Columna de sedimentación modificada.
2: Llave de cierre/apertura para la recogida de heces.
3: Bote de centrífuga para la recogida de heces.
4: Columna de sedimentación del Sist. Guelph.

Fig. 3.1.

a) Acuarios experimentales.

b) Detalle del sistema de recogida de heces.

3.3. DIETAS EXPERIMENTALES

Las dietas experimentales fueron formuladas en base a los datos disponibles en bibliografía en cuanto a necesidades y criterios generales de nutrición para la trucha arco iris y fueron fabricadas íntegramente en nuestro laboratorio.

Como paso previo a la formulación de las dietas, se realizó el procesado de las distintas materias primas utilizadas como fuente de proteína, tendente a conseguir un tamaño de partícula adecuado para la mezcla (no superior a 50 μm), lo cual se consiguió pasándolas a través de un molino eléctrico de martillos y de una serie de tamices.

La harina de pescado fue suministrada por TROFIC S.A. (HP1) y HARINAS DEL ATLANTICO S.A. (HP2). Las harinas de algodón, girasol y soja fueron suministradas por SANDERS S.A. La caseína fue suministrada por MUSAL & CHEMICAL S.A. El gluten de maíz fue suministrado por CAMPOEBRO INDUSTRIAL S.A. El altramuz fue suministrado por Semillas BATLLE en forma de semillas secas.

Tras el procesado de las fuentes proteicas se realizó el análisis de su composición en macronutrientes que se recoge en la Tabla 3.1 y su aminograma reflejado en la Tabla 3.2.

La formulación y composición química completa de las dietas empleadas en cada ensayo, así como su aminograma, se recoge en las Tablas 3.5 a 3.12. Para la formulación de las dietas de los Ensayos 10 y 11 que, como ya se ha indicado en el Diseño Experimental, se formularon isocalóricas en energía digestible, se consideraron los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes de cada una de las materias primas; en el caso de las harinas de girasol y gluten de maíz se aplicaron los resultados del Ensayo 7, mientras que para la formulación de la dieta control, se consideraron los valores de CDA de los macronutrientes de la harina de pescado 2 (HP2), obtenidos en el Ensayo 8, ya que ésta fue la harina utilizada en estos

experimentos. El mismo criterio se siguió para el ajuste de la composición en aminoácidos "digestibles" de las dietas.

Como fuente lipídica se utilizó una mezcla de aceite de pescado y aceite de maíz, teniendo en cuenta la grasa aportada por las harinas de origen animal y vegetal usadas en la fórmula, guardando la proporción 1:1 entre ambos tipos de aceites, hasta alcanzar un 12% del total de la dieta.

Como fuente hidrocarbonada se añadió almidón de maíz nativo pregelatinizado, de nombre comercial PRECOL, suministrado por CAMPOEBRO INDUSTRIAL S.A.. La cantidad añadida se hizo teniendo en cuenta, en el caso de las fuentes proteicas vegetales, la cantidad de hidratos de carbono aportada por las mismas.

Los complementos mineral y vitamínico fueron preparados en nuestro laboratorio según lo establecido por De la Higuera *et al.* (1988) y su composición se detalla en las Tablas 3.3 y 3.4 respectivamente.

Para la determinación de los coeficientes de digestibilidad aparente se añadieron, como marcadores inertes Cr_2O_3 y Sílice (polvo de diatomeas).

Como aglutinante dietario se usó la carboximetil celulosa, si bien en el Ensayo 3, debido a su finalidad, también se usaron alginato sódico y "Carbapol 941" (polímero sintético suministrado por el Departamento de Nutrición de esta Universidad).

El preparado multienzimático, de nombre comercial KEMZYME-DRY, fué suministrado por la empresa KEMIN EUROPA N.S., y estaba compuesto por una mezcla de α -amilasa (3.2%), β -glucanasa (16.1%), proteasas (48.3%), lipasas (muy bajo %) y un complejo de enzimas formado por celulasas, hemicelulasas, pentosanasas, xilanasas, celobiasas y pectinasas (32.25%).

El "Nutriente de Automultiplicación, Tipo B", lo suministró la empresa BIOINGENIERIA AGRICOLA Y GANADERA (BIOAGA). El folleto propagandístico

indica que está compuesto de una mezcla de plantas (Statice, Syringe, etc.) y microorganismos (Azotobacter, Micrococcus, Bacillus, etc.).

Los aminoácidos libres añadidos a algunas dietas fueron L-Aa, suministrados por MUSAL & CHEMICAL S.A.

Finalmente, se utilizó la celulosa micronizada como diluyente para completar el 100% de la dieta.

Todos los ingredientes se homogenizaron en una mezcladora comercial durante 30 min y la mezcla resultante se cernió 3-4 veces con un tamiz cuya malla tenía una luz de 100 μm , asegurándonos de este modo la total homogenización de los distintos componentes. El paso siguiente fué añadir a la mezcla la cantidad suficiente de agua para obtener una pasta húmeda que nos permitiera el granulado, el cual se realizó en una granuladora con una matriz perforada con orificios de 3 mm. Los gránulos así obtenidos se secaron a temperatura ambiente sobre una malla de plástico con una luz de 0.5 mm, hasta reducir su humedad hasta un 8-10%; a continuación se empaquetaron en bolsas opacas y herméticas y se conservaron en cámara fría a 4°C, desde donde se iban tomando diariamente para ser suministrados a los animales.

Tabla 3.1. Composición de las fuentes proteicas usadas en los ensayos (% s/ss; Energía MJ/Kg).

	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	H.C.	Energía	Mat.Seca
H. Pescado (HP1)	70.79	9.57	16.22	-----	-----	20.48	91.27
H. Pescado (HP2)	70.77	6.53	19.96	-----	-----	19.98	91.28
Caseína	92.43	1.86	1.75	-----	-----	23.79	89.29
H. Algodón	53.07	4.02	6.27	8.05	28.59	20.91	91.67
H. Altramuz	38.88	10.86	3.77	11.47	35.02	21.02	92.50
H. Girasol	39.57	3.11	7.44	16.51	33.37	18.83	91.33
H. Gluten maíz	71.74	5.89	1.45	3.16	17.76	22.26	92.19
H. Soja	53.16	2.38	7.05	6.19	31.22	19.86	90.44

Tabla 3.2. Composición en aminoácidos de las fuentes de proteína empleadas en la formulación de las dietas (mg/100 mg de proteína).

	HP 1	HP 2	Caseína	Algodón	Altramuz	Girasol	Gl.Maíz	Soja
Leu	8.57	8.20	8.48	6.97	7.82	5.36	14.05	6.61
Ile	3.74	4.10	5.96	4.17	4.20	5.31	3.88	3.61
Val	5.60	5.30	6.41	5.00	3.51	5.76	4.23	5.10
Thr	4.54	4.80	4.44	4.81	3.93	4.90	3.47	4.58
Phe	3.61	3.90	5.58	4.61	3.00	5.63	4.70	4.16
Tyr	3.65	3.20	5.22	4.44	5.58	4.01	4.94	4.47
Met	2.00	2.80	1.88	1.34	0.66	1.72	1.66	2.00
Arg	5.88	5.90	3.92	9.10	10.10	10.87	3.96	6.73
His	2.60	2.40	1.83	2.55	2.01	0.96	1.77	2.20
Lys	9.83	8.70	6.79	4.24	4.97	6.12	1.88	5.74
Asp	10.47	9.90	4.31	11.78	11.89	8.43	3.56	11.63
Glu	15.75	15.10	22.26	21.70	21.70	15.80	20.54	18.37
Ser	4.00	4.20	5.08	4.44	4.66	3.56	4.33	5.52
Gly	4.00	5.10	1.81	6.49	3.74	9.43	3.83	4.26
Ala	5.34	6.00	0.86	2.88	2.21	1.81	7.10	3.00
Pro	3.95	4.10	12.29	2.77	4.60	3.59	10.95	2.69
Hpro	4.27	4.00	0.00	trazas	2.92	3.64	1.76	2.69

Tabla 3.3. Composición del corrector mineral empleado en la formulación de las dietas.

	<u>mg/100 g dieta</u>
SO ₄ Zn (7 H ₂ O)	20
SO ₄ Cu (5 H ₂ O)	5
SO ₄ Mn (1 H ₂ O)	20
SO ₄ Co (7 H ₂ O)	5
SO ₄ Al (16 H ₂ O)	1
SO ₄ Fe (7 H ₂ O)	150
IK	2
ClK	250
Cl ₃ Mg	460
ClNa	400
CO ₃ Ca	650
(PO ₄ H ₂) ₂ Ca (1 H ₂ O)	3000
SeO ₃ Na	0.218
Excipiente (celulosa microniz.)	<u>36.782</u>
Total	5000

Tabla 3.4. Composición del corrector vitamínico empleado en la formulación de las dietas.

	<u>mg/100 g dieta</u>
Tiamina (B ₁)	5
Riboflavina (B ₂)	20
Piridoxina (B ₆)	5
Cianocobalamina (B ₁₂)	0.1
Acido nicotínico	75
Pantotenato de calcio	30
Inositol	200
Biotina	25
Acido fólico	1.5
Acido ascórbico	100
PABA	40
Clorhidrato de colina	800
Menadiona (K)	8
Vitamina A (retinal)	1
Vitamina D ₃ (coleciferol)	0.5
Vitamina E (α -tocoferol)	80
Excipiente (celulosa microniz.)	<u>608.9</u>
Total	2000

Tabla 3.5. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 3.

Ingredientes (% s/ss)	ALG	CMC	C941
Harina de pescado (HP1)	59.33	59.33	59.33
Aceite de pescado	0.32	0.32	0.32
Aceite de maíz	6.00	6.00	6.00
Almidón pregelatinizado	20.00	20.00	20.00
Corrector mineral	5.00	5.00	5.00
Corrector vitamínico	2.00	2.00	2.00
Alginato sódico	2.00	-----	-----
Carboximetil celulosa	-----	2.00	-----
Carbapol "941"	-----	-----	2.00
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50	0.50
Celulosa	4.85	4.85	4.85
Análisis de dietas (% s/ss)			
Humedad	7.27	6.76	7.50
Proteína	42.15	41.94	42.01
Grasa	11.67	11.85	12.09
Cenizas	15.30	15.25	15.09
MELN	30.88	30.96	30.81
Cr ₂ O ₃	0.40	0.39	0.40
Mn ²⁺	0.30	0.26	0.29
Mg ²⁺	0.30	0.31	0.30
Zn ²⁺ (ppm)	31.75	29.70	28.90
Cu ²⁺ (ppm)	27.15	31.45	29.30

Tabla 3.6. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 7.

	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Ingredientes (% s/ss)								
Harina de pescado (HP1)	59.33	----	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60
Caseína	----	45.44	18.18	----	----	----	----	----
Harina de algodón	----	----	----	31.66	----	----	----	----
Harina de altramuz	----	----	----	----	43.21	----	----	----
Harina de girasol	----	----	----	----	----	42.46	----	----
Harina de gluten de maíz	----	----	----	----	----	----	23.41	----
Harina de soja	----	----	----	----	----	----	----	31.60
Aceite de pescado	0.32	5.16	2.25	2.60	2.60	2.60	2.60	2.60
Aceite de maíz	6.00	6.00	6.00	4.73	1.30	4.70	4.62	5.25
Almidón pregelatinizado	20.00	20.00	20.00	10.95	6.38	5.83	15.10	10.13
Corrector mineral	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Corrector vitamínico	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
CMC	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Sflice	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Celulosa	4.35	13.40	7.97	4.46	0.91	----	8.67	4.82
Análisis de dietas (% s/ss)								
Humedad	7.64	10.43	9.10	9.38	9.95	6.84	9.10	7.85
Proteína	41.91	42.46	42.66	41.96	42.32	41.85	42.52	42.05
Grasa	10.85	11.16	9.60	10.71	10.39	11.01	11.34	11.06
Cenizas	15.16	5.75	11.16	13.10	12.48	13.91	11.06	13.18
Fibra bruta	5.89	15.02	9.53	10.95	12.32	12.33	9.41	12.28
H. Carbono	26.19	25.61	27.05	23.28	22.49	20.90	25.67	21.43
Cr ₂ O ₃	0.38	0.38	0.36	0.38	0.37	0.36	0.35	0.36
CIA	0.84	0.91	0.87	0.50	0.61	0.83	0.60	0.52
Energía bruta (MJ/Kg)	19.55	21.58	20.30	20.05	20.01	20.13	20.70	20.08
PB/EB (g/MJ)	21.44	19.68	21.01	20.93	21.15	20.79	20.54	20.96

Tabla 3.7. Formulación y composición química de las dietas utilizadas en el Ensayo 8.

Ingredientes (% s/ss)	C ₂	A ₂	AK ₁	AK ₂	AK ₃
Harina de pescado (HP2)	59.33	35.61	35.61	35.61	35.61
Harina de algodón	-----	31.66	31.66	31.66	31.66
Aceite de pescado	2.12	3.68	3.68	3.68	3.68
Aceite de maíz	6.00	4.73	4.73	4.73	4.73
Almidón pregelatinizado	20.00	10.95	10.95	10.95	10.95
Corrector mineral	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Corrector vitamínico	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Carboximetil celulosa	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
KEMZYME	-----	-----	0.04	0.12	0.36
Celulosa	3.03	3.87	3.83	3.75	3.51
Análisis de dietas (% s/ss)					
Humedad	9.63	8.73	8.97	9.65	8.95
Proteína	42.29	41.60	41.73	41.93	41.92
Grasa	11.84	11.73	11.89	12.47	12.41
Cenizas	16.13	13.69	13.87	14.11	14.15
Fibra bruta	4.51	10.87	10.56	10.09	10.03
H. Carbono	25.23	22.11	21.95	21.40	21.49
Cr ₂ O ₃	0.30	0.30	0.30	0.31	0.34
Energía (MJ/Kg)	19.64	20.03	20.01	20.01	20.00
PB/EB (g/MJ)	21.53	20.77	20.85	20.95	20.96

Tabla 3.8. Formulación y composición química de las dietas del ensayo 9.

Ingredientes (% s/ss)	C ₃	C ₃ B
Harina de pescado (HP2)	59.15	59.15
Aceite de pescado	2.50	2.50
Aceite de maíz	6.10	6.10
Almidón pregelatinizado	20.00	20.00
Corrector mineral	2.00	2.00
Corrector vitamínico	2.00	2.00
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50
Carboximetil celulosa	1.50	1.50
Celulosa	6.25	6.25
BIOAGA (ml)	----	0.03
Análisis de las dietas (% s/ss)		
Humedad	9.01	8.12
Proteína	42.22	41.79
Grasa	11.11	11.27
Cenizas	13.43	13.61
Fibra bruta	7.51	7.34
H. Carbono	25.73	25.99
Cr ₂ O ₃	0.35	0.36
Energía (MJ/Kg)	20.61	20.82
PB/EB (g/MJ)	20.58	20.40

Tabla 3.9. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 10.

Ingredientes (% s/ss)	C ₃	G ₂	G ₂ S
Harina de pescado (HP2)	59.15	35.49	35.49
Harina de girasol	-----	39.27	39.27
Aceite de pescado	2.50	3.80	3.80
Aceite de maíz	6.10	4.90	4.90
Almidón pregelatinizado	20.00	11.07	11.07
Corrector mineral	2.00	2.00	2.00
Corrector vitamínico	2.00	2.00	2.00
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50	0.50
Carboximetil celulosa	1.50	1.50	1.50
L-leu	-----	-----	0.46
L-lys	-----	-----	0.42
L-met	-----	-----	0.17
Celulosa	6.25	-----	-----
Análisis de las dietas (% s/ss)			
Humedad	9.01	8.18	8.80
Proteína	42.22	39.47	40.04
Grasa	11.11	11.54	11.39
Cenizas	13.43	11.90	11.83
Fibra bruta	7.51	11.72	10.80
H. Carbono	25.73	25.37	25.94
Cr ₂ O ₃	0.35	0.32	0.32
Energía (MJ/Kg)	20.61	20.38	20.81
PB/EB (g/MJ)	20.58	18.91	19.21

Tabla 3.10. Formulación y composición química de las dietas del Ensayo 11.

Ingredientes (% s/ss)	C ₃	GLGS
Harina de pescado (HP2)	59.15	-----
Harina de girasol	-----	45.16
Harina de gluten de maíz	-----	27.98
Aceite de pescado	2.50	6.11
Aceite de maíz	6.10	3.07
Almidón pregelatinizado	20.00	5.17
Corrector mineral	2.00	2.00
Corrector vitamínico	2.00	2.00
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50
Carboximetil celulosa	1.50	1.50
L-lys	-----	1.89
L-met	-----	0.45
Betaína	-----	1.00
Celulosa	6.25	3.17
Análisis de las dietas (% s/ss)		
Humedad	9.01	7.37
Proteína	42.22	39.71
Grasa	11.11	11.40
Cenizas	13.43	6.11
Fibra bruta	7.51	15.82
H. Carbono	25.73	26.96
Cr ₂ O ₃	0.35	0.29
Energía (MJ/Kg)	20.61	21.62
PB/EB (g/MJ)	20.58	18.46

Tabla 3.11. Aminograma de las dietas del Ensayo 7 (mg/100 mg proteína).

	DIETAS							
	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Leu	8.57	8.48	8.52	7.93	8.26	7.29	10.76	7.79
Ile	3.74	5.96	4.62	3.90	3.93	4.36	3.79	3.69
Val	5.60	6.41	5.93	5.36	4.76	5.67	5.05	5.40
Thr	4.54	4.44	4.50	4.64	4.29	4.67	4.09	4.55
Phe	3.61	5.58	4.40	4.00	3.36	4.43	4.05	3.83
Tyr	3.65	5.22	4.29	3.98	4.43	3.79	4.17	3.98
Met	2.00	1.88	1.95	1.71	1.45	1.88	1.86	1.64
Arg	5.88	3.92	5.09	7.17	7.57	7.88	5.09	6.21
His	2.60	1.83	2.29	2.57	2.36	1.93	2.26	2.43
Lys	9.83	6.79	8.62	7.59	7.88	8.36	6.57	8.19
Asp	10.47	4.31	8.00	11.00	11.05	9.64	7.71	10.93
Glu	15.75	22.26	18.36	18.14	18.14	15.76	17.67	16.80
Ser	4.00	5.08	4.43	4.19	4.26	3.83	4.14	4.62
Gly	4.00	1.81	3.12	5.00	3.90	6.17	3.93	4.12
Ala	5.34	0.86	3.55	4.36	4.09	3.93	6.05	4.40
Pro	3.95	12.29	7.26	3.45	4.19	3.79	6.74	5.17
Hpro	4.27	0.00	2.57	2.57	3.74	4.02	3.29	3.64

Tabla 3.12. Composición en aminoácidos "teóricamente digestibles" de las dietas de los Ensayos 10 y 11.

	DIETAS			
	C ₃	G ₂	G ₂ S	GLGS
Leu	3.07	2.61	3.07	3.62
Ile	1.54	1.68	1.68	1.63
Val	1.99	2.02	2.04	1.77
Thr	1.80	1.79	1.79	1.49
Phe	1.46	1.69	1.69	1.85
Tyr	1.20	1.30	1.30	1.62
Met	1.05	0.88	1.05	1.05
Arg	2.21	2.89	2.89	2.57
His	0.90	0.62	0.62	0.50
Lys	3.26	2.84	3.26	3.26
Asp	3.71	3.44	3.44	2.09
Glu	5.66	5.66	5.66	6.61
Ser	1.57	1.45	1.45	1.43
Gly	1.91	2.51	2.51	2.30
Ala	2.25	1.61	1.61	1.68
Pro	1.54	1.44	1.44	2.72
Hpro	1.50	1.42	1.42	0.94

3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

3.4.1. CONTROL DE PESO E INGESTA.

Las dietas granuladas se suministraron "ad libitum" dos veces al día (9:00 y 16:00 h), siete días a la semana, controlando diariamente la ingesta de cada lote de animales.

Los controles de peso, a partir del día inicial, se realizaron, en el caso de ensayos de larga duración, cada dos semanas durante el periodo experimental, introduciendo cada lote en un recipiente que contenía agua con anestésico MS-222 (1:20000) y que estaba provisto de una canastilla perforada que permitía, una vez los animales estaban anestesiados, extraerla del recipiente y escurrir el agua. Los controles de peso se realizaron en una balanza colgante, donde previamente se había tarado la canastilla, con un error máximo de ± 5 g. En todos los casos los animales se mantuvieron en ayuno durante las 24 horas previas al control de peso.

Además de los pesos por grupos, al principio y al final del experimento todos los animales se pesaron individualmente en una balanza monoplato, de error ± 0.01 g, para establecer la dispersión de pesos.

La toma de muestras de animales, para análisis de composición corporal, se realizó al principio y al final de cada experimento, el protocolo seguido se detalla en el apartado 3.4.2.

3.4.2. TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Para realizar el análisis químico de dietas, animales y heces fue necesario un procesamiento previo, que se describe a continuación.

DIETAS

Una vez las dietas experimentales estaban listas para su almacenaje, se tomó una muestra al azar y se trituro en un molino de cuchillas hasta la obtención de una harina.

ANIMALES

Para el análisis de la composición corporal se emplearon dos métodos en cuanto a la toma de muestras:

1) Peces tomados al azar al principio (20 animales) y al final (5 animales por lote) del experimento, sometidos al siguiente protocolo:

- 1.-Diseción del animal para la limpieza del intestino de restos de alimento que pudieran alterar los resultados.
- 2.-Troceado del animal.
- 3.-Deseccación en estufa a 105°C hasta peso constante.
- 4.-Trituración en un molino de cuchillas hasta transformarlos en harina.

Método utilizado para el análisis de los animales de los Ensayos 1 al 8.

2) Se tomó una muestra representativa de animales del punto inicial (20) y la totalidad de los animales del punto final sometiéndolos al siguiente protocolo:

- 1.-Diseción de los animales para la limpieza del digestivo.
- 2.-Distribución al azar de los animales de cada lote en tres grupos y trituración en un molino de cuchillas hasta la obtención de una pasta.
- 3.-Secado en estufa a 105°C.
- 4.-Trituración hasta la obtención de harina.

Método utilizado para el análisis de los animales de los Ensayos 9 al 11.

HECES

Antes de la primera comida del día se retiraron los botes de centrifuga, conteniendo las heces, de la columna de sedimentación (en el caso del Sistema Guelph se recogían las heces de la columna en un bote de centrifuga de iguales características a los anteriores) y a continuación se siguió el siguiente protocolo:

- 1.- Centrifugación a 10000 r.p.m en una centrifuga (CENTRIKON H-401) refrigerada a 7°C durante 20 min.
- 2.- Eliminación del sobrenadante y trasvase de las heces a cápsulas de humedad.
- 3.- Deseccación en estufa a 105°C hasta peso constante.
- 4.- Mezcla de las heces de varios días sucesivos con el fin de obtener una cantidad suficiente de muestra para el análisis completo de su composición. Cada muestra así obtenida se correspondía posteriormente con las réplicas del Coeficiente de Digestibilidad Aparente; el número de muestras usadas en cada ensayo, así como el número de días que se agruparon para obtener cada una de ellas se indica a continuación:

Ensayos 1, 2, 4 y 7:

Cinco muestras formadas por las heces de 5 días sucesivos, obtenidas mediante el Sistema Guelph modificado (cuatro muestras recogidas durante las 3 primeras semanas del periodo experimental y una durante la última semana). Además, se obtuvieron 3 muestras de heces mediante el Sistema Guelph (formadas por las heces de 5 días cada una) y que sólo se consideraron de cara a realizar el Ensayo 1.

Tres muestras de heces obtenidas por presión abdominal (agrupando las heces de varios animales hasta obtener cantidad suficiente de muestra).

Ensayo 3:

Cinco muestras formadas por las heces de 4 días sucesivos obtenidas mediante el Sistema Guelph modificado.

Ensayo 5:

Cuatro muestras formadas por las heces de 3 días sucesivos, obtenidas mediante el Sistema Guelph modificado.

Ensayo 8:

Cuatro muestras formadas por las heces de 5 días sucesivos obtenidas mediante el Sistema Guepl modificado.

Ensayos 9, 10 y 11:

Tres muestras formadas, cada una, por las heces de 10 días sucesivos, obtenidas mediante el Sistema Guelph modificado. En estos Ensayos, debido a que se había comprobado que la composición de las heces, y por tanto los Coeficientes de Digestibilidad, no cambiaban a lo largo del tiempo, se recogieron las heces en periodos alternativos de 10 días.

5.- Trituración en molino de cuchillas.

Para la obtención de las heces por presión abdominal, una vez sacrificados los animales, en primer lugar se intentaron eliminar, en la medida de lo posible, los productos urinarios y sexuales mediante una suave presión ventral; a continuación el material fecal se obtuvo aplicando una presión lateral desde, aproximadamente, los 2 cm anteriores al ano. La cantidad de heces obtenida de cada animal fue mínima (0.04 g s/ss) para evitar la contaminación con material parcialmente digerido.

La estimación de la cantidad de heces recogidas (Ensayo 1) se realizó refiriéndolas a la cantidad de alimento no digerido, en el periodo de días que formaban cada muestra, y al peso medio de animales.

En el primer caso, como la recogida se realizó durante 12 h al día, referimos la cantidad heces a la mitad de la ingesta del periodo, asumiendo que las heces se emiten de forma mas o menos constante a lo largo del día. La cantidad de alimento no digerido

o lo que es lo mismo, la cantidad de heces emitidas, se calculó a partir de la ingesta y del CDA de la materia seca. Según esto, el cálculo se realizó mediante la siguiente expresión:

$$\text{Alimento no digerido} = (\text{Ingesta (g)} \times (100 - \text{CDA MS}))/100$$

$$\% \text{ Heces recogidas} = (\text{Heces (g)}/\text{alimento no digerido (g)}) \times 100$$

En el caso en que se expresó la cantidad de heces recogidas refiriéndola al peso medio.día⁻¹, el peso medio de los animales, en el periodo de días que constituían cada muestra, se calculó teniendo en cuenta la Tasa de Crecimiento Instantáneo, ya que los controles de peso se realizaron cada 14 días y las muestras, en el Ensayo 1, estaban formadas por las heces recogidas durante cinco días. El cálculo se realizó a partir de la expresión:

$$\text{Heces recogidas} = (\text{Heces (g)}/\text{peso medio (Kg)})/n^{\circ} \text{ días}$$

3.5. METODOS ANALITICOS

3.5.1. ANALISIS DE COMPOSICION

Para realizar el análisis de materias primas, dietas, heces y animales, se siguieron los métodos que se indican a continuación.

NITROGENO

Según el método Kjeldhal, se procedió a la digestión de la proteína con SO₄H₂

en un digestor NITROKJEL DRA, usando como catalizador de la reacción una mezcla de sulfato potásico, sulfato cúprico y selenio. Tras la digestión se realizó la destilación de la muestra con NaOH al 40%, recogiendo el destilado en un matraz, hasta un volumen total de 150 ml, donde previamente se habían añadido 35 ml de indicador Büchi compuesto por rojo de metilo y verde de bromocresol.

La valoración del destilado obtenido se realizó con ClH 0.01 N hasta viraje del indicador. Se usó el factor 6.25 para la conversión de nitrógeno en proteína.

GRASA

Mediante extracción continua con éter etílico por el método Soxhlet (BÜCHI 810).

CENIZAS

Por incineración en horno mufla a 500°C hasta peso constante (HERAEUS).

MATERIAL EXTRACTIVO LIBRE DE NITROGENO (MELN)

Por diferencia, a partir de los valores de proteína, grasa y cenizas, según la siguiente expresión:

$$\% \text{ MELN} = 100 - (\% \text{ Proteína} + \% \text{ Grasa} + \% \text{ Cenizas})$$

FIBRA BRUTA

Por el método de Weende, consistente en dos hidrólisis sucesivas, una en medio ácido diluido y otra en medio básico diluido y una extracción con solventes en una unidad de extracción (IMR), seguidas de incineración en horno mufla. La parte del residuo, tras las hidrólisis y la extracción con solventes, que se pierde en la incineración, es la fibra bruta.

HIDRATOS DE CARBONO

La cantidad de hidratos de carbono disponibles para el animal a nivel digestivo se calculó por diferencia, a partir de los valores de proteína, grasa, cenizas y fibra bruta, según la siguiente expresión:

$$\% \text{ HC} = 100 - (\% \text{ Proteína} + \% \text{ Grasa} + \% \text{ Cenizas} + \% \text{ Fibra bruta})$$

ENERGIA

En bomba calorimétrica adiabática (GALLENKAMP).

HUMEDAD

Por desecación en estufa a 105°C hasta peso constante (HERAEUS).

PROPORCION DE CROMO EN DIETAS Y HECES

Determinación de Cr₂O₃, en el destilado procedente del análisis Kjeldhal, mediante espectrofotometría de absorción atómica, con lámpara de cátodo hueco de cromo, en espectrofotómetro PYE UNICAM SP-1900.

PROPORCION DE CENIZAS INSOLUBLES EN ACIDO EN DIETAS Y HECES

Por el método de Atkinson *et al.* (1984), consistente en incineración de las muestras, posterior digestión de las cenizas con CIH, filtración a través de filtros carentes de cenizas e incineración, a 600°C, del filtro y del residuo que queda en él.

AMINOGRAMAS

Por cromatografía líquida de alta resolución en muestras hidrolizadas con CIH en atmósfera de nitrógeno (KONIK).

Los métodos analíticos, salvo que se especifique la referencia, se realizaron según lo establecido por la AOAC (1980).

3.5.2. DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATOLOGICOS

En los casos en que se determinaron parámetros hematológicos, la toma de muestras de sangre se realizó en animales, del punto inicial y final del ensayo, previamente anestesiados y pesados. La sangre se extrajo, por punción en la vena caudal, con jeringas previamente heparinizadas.

Los parámetros que se determinaron fueron:

Hematocrito: Por centrifugación de la sangre durante 10 minutos, a 10000xg, en microcapilares heparinizados (Blaxhall y Daisley, 1973).

Hemoglobina: Por el método colorimétrico de la cianmetahemoglobina, determinada fotométricamente a 540 nm (Larsen y Snieszko, 1961).

3.6. INDICES BIOLOGICOS UTILIZADOS

3.6.1. EFICACIA DEL ALIMENTO

Los incrementos de peso se han expresado como porcentaje del peso inicial y en términos absolutos (g). También se expresó el crecimiento como Tasa de Crecimiento Instantáneo (TCI) según la siguiente expresión:

$$\text{TCI} = \frac{\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}}{n^\circ \text{ días}} \times 100$$

El primer paso para evaluar la eficacia del alimento, una vez cuantificada la ingesta total de dieta, es la valoración del crecimiento en peso de los animales que cada una de las dietas experimentales promueve. Los incrementos de peso vivo deben ser expresados en términos absolutos, para un periodo determinado de tiempo. Relacionando estos datos de crecimiento con la ingesta, se puede calcular la conversión o eficacia del alimento para cada dieta, la cual viene expresada por el Índice de Conversión:

$$IC = \frac{\text{Incremento de peso (g s/sf)}}{\text{Alimento ingerido (g s/ss)}}$$

3.6.2. UTILIZACION DIGESTIVA

Ante la dificultad que supone recoger todas las heces excretadas por los animales, se suelen utilizar métodos indirectos, en los cuales es necesario añadir a la dieta un marcador inerte, no digestible, de modo que los cambios en las proporciones del nutriente y el marcador en dieta y heces permiten conocer, de forma indirecta, la digestibilidad del nutriente según la siguiente expresión:

$$CDA = 100 - \left[\frac{\% \text{ indicador en dieta} \times \% \text{ nutriente en heces}}{\% \text{ indicador en heces} \times \% \text{ nutriente en dieta}} \times 100 \right]$$

Para el cálculo del Coeficiente de Digestibilidad de la proteína de las materias primas experimentales, se siguió el método, propuesto por Cho *et al.* (1985), de sustitución parcial de la dieta de referencia por el ingrediente problema. En nuestro caso, la sustitución se realizó a nivel de nutriente experimental (proteína) y no de

ingrediente total; además, el nivel de sustitución fue del 40% del ingrediente (en el diseño original los autores citados sustituyen el 30% de la dieta). El cálculo del CDA de la proteína de la fuente se realizó según la siguiente expresión:

$$\text{CDA PF} = [\text{CDA P Dex} - (0.6 \times \text{CDA P Dref})] / 0.4$$

Donde:

CDA PF: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína de la materia prima.

CDA P Dex: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína de la dieta experimental, en la que parte de la proteína de harina de pescado es sustituida por la proteína de la materia prima.

CDA P Dref: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína de la dieta Control.

0.6: Nivel de proteína del nutriente de referencia (harina de pescado), respecto al total de la proteína, en la dieta experimental (g/g).

0.4: Nivel de proteína del nutriente experimental (materia prima), respecto al total de proteína, en la dieta experimental (g/g).

En el caso del control cruzado, realizado en el Ensayo 4, en el cual se calculó indirectamente el CDA de la proteína de harina de pescado y de caseína a partir de los valores obtenidos de forma directa para ambas proteínas, con las dietas que incluían una u otra materia prima como única fuente de proteína, y del CDA de la proteína de la dieta CA40, en la que el 60% de la proteína era aportada por la harina de pescado y el 40% por la caseína, los términos de la expresión anterior cambiaron, quedando como se indica a continuación:

$$\text{CDA P h. pescado (indirecto)} = [\text{CDA P CA40} - (0.4 \times \text{CDA P CA100})] / 0.6$$

$$\text{CDA P caseína (indirecto)} = [\text{CDA P CA40} - (0.6 \times \text{CDA P C})] / 0.4$$

Basándonos en un criterio similar al anterior, se calculó el CDA de los hidratos de carbono de la materia prima según la siguiente expresión:

$$\text{CDA HCF} = [(\text{HC Dexp} \times \text{CDA HC Dexp}) - (\text{HC Exóg} \times \text{CDA HC Dref})] / \text{HCF}$$

Donde:

CDA HCF: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los hidratos de carbono de la materia prima experimental.

HC Dexp: Hidratos de carbono de la dieta experimental (g/100g dieta).

CDA HC Dexp: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los hidratos de carbono de la dieta experimental.

HC Exóg: Hidratos de carbono (almidón pregelatinizado) añadidos a la dieta experimental (g/100 g dieta).

CDA HC Dref: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los hidratos de carbono de la dieta control, que son en su totalidad de procedencia exógena (almidón pregelatinizado).

HCF: Hidratos de carbono aportados por la materia prima a la dieta experimental (g/100 g dieta).

También se obtuvieron los valores de excreción endógena de proteína en truchas alimentadas con una dieta carente de proteína, lo que permitió realizar el cálculo del Coeficiente de Digestibilidad Verdadero de la proteína.

El cálculo de la energía digestible y del CDA de la energía de las materias primas se realizó de forma indirecta, a partir de la composición en macronutrientes y la energía bruta de las mismas, según las siguientes expresiones:

$$\text{EDF} = (\% \text{PF} \times \text{CDA PF} \times 23.64) + (\% \text{GF} \times \text{CDA GF} \times 39.54) + (\% \text{HCF} \times \text{CDA HCF} \times 17.2)$$

$$\text{CDA EF} = (\text{EDF}/\text{EBF}) \times 100$$

Donde:

EDF: Energía digestible de la materia prima.

% PF, GF, HCF: Porcentaje de proteína, grasa e hidratos de carbono de la materia prima.

CDA PF, GF, HCF: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína, grasa e hidratos de carbono de la materia prima.

23.64, 39.54, 17.2: Factores calóricos estandar establecidos para la proteína, la grasa y los hidratos de carbono, respectivamente (KJ/g).

CDA EF: Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la energía de la materia prima.

EBF: Energía bruta de la materia prima (determinada en bomba calorimétrica).

El marcador más ampliamente utilizado en los estudios de digestibilidad es el óxido de cromo (Cr_2O_3), habiéndose confirmado su utilidad en los estudios de digestibilidad en peces, sobre todo en el caso de la proteína (Austreng, 1978). Si bien este marcador es el más utilizado, en nuestro estudio también hemos querido evaluar la efectividad de la sílice (mediante la determinación de cenizas insolubles en ácido) y de la fibra bruta, como marcadores inertes.

3.6.3. UTILIZACION DE LA PROTEINA

A la hora de evaluar una fuente proteica, lo fundamental es conocer el uso que el animal hace de ella para crecimiento, lo cual se manifiesta en términos de retención de nitrógeno. Esta utilización que el animal hace de la proteína se expresa mediante índices de ganancia o retención proteica, bien en valores absolutos, o bien relativos a la ingesta y/o absorción de nitrógeno proteico. Estos valores de retención nitrogenada, referidos tanto a la ingesta proteica como a la proteína digerida, se traducen en índices de utilización nutritiva que reflejarán la calidad de la proteína dietaria para crecimiento.

Cuando un animal ingiere una proteína, lo más beneficioso es que ésta tenga un destino estructural, lo cual se traducirá en un aumento de nitrógeno corporal total. Es por esto, que la medida de la ganancia de nitrógeno corporal es un buen índice, tanto de crecimiento, como de aprovechamiento de la proteína alimenticia. Dado que el nitrógeno incorporado al organismo procede de la proteína ingerida, la medida del incremento de nitrógeno corporal como índice de calidad de este nutriente ha de referirse a dicha ingesta.

Uno de los índices que evalúa la calidad proteica es el denominado Valor Productivo de la Proteína (VPP) que establece la relación porcentual entre la ganancia de nitrógeno corporal y el nitrógeno ingerido en un determinado espacio de tiempo, y cuya expresión matemática es:

$$\text{VPP} = \frac{\text{N corporal final} - \text{N corporal inicial}}{\text{N ingerido}} \times 100$$

Otro índice de evaluación de la calidad proteica es el Valor Biológico (VB), que expresa el nitrógeno retenido a partir del absorbido. Con este índice obtenemos información acerca de la calidad o utilización de la proteína para crecimiento una vez que ha sido digerida y absorbida. A partir de los datos de VPP y CDA de la proteína, se puede calcular el VB aparente (si se obvian las correcciones por nitrógeno endógeno), ya que este representa la proporción de nitrógeno retenido (VPP) respecto al absorbido (CDA).

$$\text{VB aparente} = \frac{\text{VPP}}{\text{CDA}} \times 100$$

En el caso de tener en cuenta la excreción endógena de proteína, se calcula el VB real, usando para ello el Coeficiente de Digestibilidad Verdadero de la proteína.

En la práctica, el término más usado en la evaluación de la proteína para crecimiento es el Coeficiente de Eficacia en Crecimiento (CEC), que relaciona la ganancia de peso con la ingesta proteica según la siguiente expresión:

$$\text{CEC} = \frac{\text{Incremento de peso (g s/sf)}}{\text{Proteína ingerida (g)}}$$

Este índice, si bien es menos preciso que los anteriores, es muy útil y fiable cuando las condiciones experimentales están bien estandarizadas.

3.6.4. BALANCE ENERGETICO

El balance energético se realizó en base a lo establecido por Cho y Kaushik (1985). Para realizarlo nos basamos en los análisis del contenido energético de dieta y heces (mediante combustión en bomba calorimétrica adiabática), en los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de la proteína y la energía, y en los valores de retención energética y proteica. En base a esto se aplicó el siguiente esquema:

- **Energía bruta ingerida, EBI:** Ingesta (g) x calor de combustión del alimento(KJ/g).
- **Energía digestible, ED:** (EBI x CDA energía)/100.
- **Pérdidas extrafecales de energía, EU+EZ:**

EU: energía eliminada en orina

EZ: energía eliminada por branquias

Las pérdidas extrafecales de energía se corresponden con las pérdidas nitrogenadas a través de orina y branquias, de modo que el cálculo se realiza utilizando los

valores de nitrógeno digerido (ND) y retenido (NR):

$$ND = (N \text{ ingerido (g)} \times \text{CDA nitrógeno (= CDA proteína)}) / 100$$

$$NR = [(\text{peso corporal final (g)} \times \%N \text{ corp. final}) - (\text{peso corporal inicial (g)} \times \%N \text{ corporal inicial})] / 100$$

Se ha establecido (Elliott y Davison, 1975) que el valor calórico del nitrógeno ureico/amoniaco es 25 KJ/g de N; según lo anterior, las pérdidas extrafecales de energía se calculan según la siguiente expresión:

$$(ND - NR)25 = (EU + EZ)$$

y una vez conocido este valor se puede calcular la energía metabolizable (EM)

- **Energía metabolizable, EM:** $ED - (EU + EZ)$

- **Producción de calor, EC:** $EM - ER$

La ER puede hallarse de un modo directo, por combustión de muestras de animales al principio y al final del experimento, o bien indirectamente, analizando la composición corporal en cuanto a proteína y grasa inicial y final y multiplicando ambos componentes por su factor calórico teórico.

Debido a que existe cierta controversia acerca de lo acertado de utilizar estos factores calóricos estandar para la proteína y para la grasa corporal (sobre todo para la grasa), además de calcular los valores de ER por los dos métodos anteriores, se determinó el valor calórico de la proteína y la grasa de nuestros animales. Para esto se obtuvieron muestras de grasa corporal, mediante extracción con éter etílico, y se analizó su contenido calórico, mediante combustión en bomba calorimétrica. De los residuos resultantes tras la extracción con éter etílico, que estaban constituidos por proteína+cenizas, se tomaron muestras en las que se realizó un análisis Kjeldhal, para conocer su contenido en proteína y, posteriormente, se procedió a la combustión del

residuo restante, refiriendo el calor desprendido en la combustión a la cantidad de proteína que contenía la muestra, lo cual nos permitió conocer el valor calórico de la proteína corporal. Con estos valores calóricos obtenidos para la proteína y la grasa o con los factores calóricos estándar, se realizó el cálculo indirecto de la retención energética según la siguiente expresión:

$$ER = E \text{ corporal final} - E \text{ corporal inicial}$$

$$ER = [(((\% PCF \times FCP) + (\% GCF \times FCG)) \times \text{peso corporal final}) - (((\% PCI \times FCP) + (\% GCI \times FCG)) \times \text{peso corporal inicial})] / 100$$

Donde:

ER: Energía retenida (MJ/Kg).

% PC (F,I): Proteína corporal (final o inicial) (g/100 g).

% GC (F,I): Grasa corporal (final o inicial) (g/100 g).

FCP y FCG: Factores calóricos para proteína y grasa respectivamente (g/MJ).

Para el cálculo indirecto del valor calórico de la grasa corporal de los animales, a partir del valor calórico corporal determinado en bomba calorimétrica y de la composición en macronutrientes, se adjudicó a la proteína el valor calórico estándar (23.64) y se aplicó la expresión:

$$FCG = [(EB \text{ corp.} - ((\%PC \times 23.64)/100)) / \%GC] \times 100$$

Donde, EB corp. es la energía corporal determinada en bomba calorimétrica, y el resto de abreviaturas se corresponden con las indicadas para el cálculo de la ER.

Los valores de EB, ED, (EU + EZ), EM, EC y ER, que definen la utilización energética de la dieta, se refirieron a Kg de dieta y Kg de animal (peso medio). Asimismo, se calculó el porcentaje que cada una de estas fracciones suponía del resto, obteniéndose los valores de EMI%EBI, EMI%EDI, ER%EBI, ER%EDI y ER%EMI.

Para calcular el rendimiento, en términos de ganancia de peso, que promovía cada una de estas fracciones de energía, se expresó cada una de ellas con respecto al incremento de peso de los lotes experimentales (EBI, EDI, EMI/incremento peso).

3.6.5. INDICES BIOMETRICOS

El Índice de Nutrición (IN), también llamado por algunos autores factor de condición, relaciona el peso y la longitud de los animales de acuerdo con la siguiente expresión:

$$IN = \frac{\text{Peso (g)}}{\text{Longitud}^3 \text{ (cm)}} \times 1000$$

La Relación Hepatosomático (RHS) indica la relación existente entre el peso del hígado y el peso corporal total. Cualquier alteración de los valores normales puede ser indicativa de alguna variación en la alimentación normal, que ha determinado un incremento en la glucogenia hepática o en la infiltración grasa. La expresión que define este índice es:

$$RHS = \frac{\text{Peso hígado (g)}}{\text{Peso pez (g)}} \times 100$$

3.7. ANALISIS ESTADISTICO

Para la estimación de posibles diferencias dentro de un grupo de tratamientos se utilizó el Análisis de la Varianza de una vía. En caso de existir diferencias significativas, se aplicó el Test de Múltiple Rango de Duncan (1955).

En todos los casos, salvo que se especifique otro valor, el margen de confianza considerado en las comparaciones fue del 95% ($p < 0.05$).

Tanto los tratamientos anteriores, como la determinación del grado de correlación que une a dos variables y su ajuste a rectas de regresión, se realizaron con el paquete estadístico STATGRAFICS (Statistical Graphics System, Versión 5.0).

4. RESULTADOS

4.1. INFLUENCIA DEL SISTEMA DE RECOGIDA DE HECES, DEL MARCADOR INERTE Y DEL AGLUTINANTE SOBRE LA VALORACION DEL USO DIGESTIVO DE LOS NUTRIENTES DIETARIOS

4.1.1. INFLUENCIA DEL METODO DE RECOGIDA DE HECES SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

Al comparar la cantidad de heces, procedentes de la dieta control, recogidas mediante las dos columnas de sedimentación, no se observaron diferencias significativas (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Estimación de la cantidad de heces recogidas, mediante dos columnas de sedimentación, a partir de una dieta control.

	Sist. Guelph	S.G. modificado
Heces recogidas (% alimento no digerido)	44.20 ^a ± 1.82(3)	45.88 ^a ± 1.26(5)
Heces recogidas (g/Kg peso medio.dfa ⁻¹)	0.94 ^a ± 0.04(3)	1.00 ^a ± 0.06(5)

Los valores entre paréntesis indican el número de muestras.

Cuando se evaluó la cantidad de heces recogidas, mediante el Sistema Guelph modificado, a partir de distintas dietas experimentales, se observó una dispersión de valores (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Cantidad de heces recogidas, mediante la columna de sedimentación modificada, a partir de distintas dietas experimentales (% alimento no digerido).

	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Heces recogidas	59.67 ^c ± 2.45	26.35 ^a ± 1.62	31.87 ^a ± 1.91	31.56 ^a ± 2.11	53.41 ^{bc} ± 2.50	29.63 ^a ± 0.70	52.62 ^{bc} ± 2.03

Los valores con distinto superíndice son estadísticamente diferentes (p<0.05). En todos los casos n=5.

En la Tabla 4.4 se expresan los valores del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes de una dieta control, calculado a partir de la composición de las heces (Tabla 4.3) obtenidas de tres formas diferentes: según el Sistema Guelph, mediante el Sistema Guelph modificado en este trabajo, y por presión abdominal.

Tabla 4.3. Composición en macronutrientes y contenido en Cr_2O_3 de las heces obtenidas mediante distintos métodos de recogida (% s/ss).

	Proteína	Grasa	Cenizas	Cr_2O_3
S. Guelph	23.26 ± 0.32(3)	4.18 ± 0.19(3)	25.00 ± 0.28(3)	1.45 ± 0.02(3)
S. Guelph modificado	20.67 ± 0.43(5)	3.84 ± 0.12(3)	31.39 ± 0.39(5)	1.14 ± 0.02(5)
Presión abdominal	21.77 ± 0.26(3)	----	----	0.98 ± 0.03(3)

Los valores entre paréntesis indican el número de muestras de heces.

Tabla 4.4. Influencia del método de recogida de heces sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de proteína, grasa y MELN de una dieta control.

	CDA P	CDA G	CDA MELN
S. Guelph	85.59 ^c ± 0.20(3)	90.08 ^b ± 0.19(3)	61.77 ^b ± 0.62(3)
S. Guelph modificado	83.65 ^b ± 0.78(5)	88.00 ^a ± 0.31(5)	54.55 ^a ± 0.40(5)
Presión abdominal	80.04 ^a ± 0.56(3)	----	----

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Los valores entre paréntesis indican el número de muestras.

Con el sistema de recogida de heces mediante presión abdominal se obtuvieron los valores de digestibilidad más bajos, mientras que las heces obtenidas mediante el Sistema Guelph proporcionaron valores de Coeficiente de Digestibilidad Aparente superiores a aquellos obtenidos utilizando el Sistema Guelph modificado, existiendo diferencias estadísticamente significativas cuando se comparan los tres métodos de recogida.

También se realizó la recogida de heces por presión abdominal y utilizando el Sistema Guelph modificado en los animales alimentados con distintas dietas experimentales. En la Tabla 4.5 se expresa el contenido en proteína y Cr_2O_3 de las heces procedentes de las diferentes dietas experimentales.

Tabla 4.5. Contenido en proteína y Cr_2O_3 de heces obtenidas por presión abdominal y mediante el S. Guelph modificado en distintas dietas experimentales (% s/ss).

	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Presión abdominal							
Proteína	4.83	17.48	18.58	14.26	15.17	15.55	17.93
	± 0.23	± 0.31	± 0.15	± 0.42	± 0.33	± 0.35	± 0.18
Cr_2O_3	1.10	1.05	1.03	0.92	0.74	0.98	0.89
	± 0.01	± 0.02	± 0.02	± 0.03	± 0.01	± 0.01	± 0.01
S. Guelph modificado							
Proteína	4.06	15.88	19.23	13.36	15.50	14.55	18.98
	± 0.17	± 0.66	± 0.66	± 0.26	± 0.24	± 0.14	± 0.27
Cr_2O_3	1.33	1.15	0.92	0.79	1.05	1.09	1.17
	± 0.04	± 0.02	± 0.01	± 0.02	± 0.02	± 0.01	± 0.03

En presión abdominal n=3, en el S. Guelph modificado n=5 (n: número de muestras de heces).

De nuevo, los resultados obtenidos (Tabla 4.6) muestran que la recogida de heces

por presión abdominal proporciona valores de CDA inferiores y estadísticamente significativos para la mayoría de las dietas ensayadas.

Tabla 4.6. Influencia del método de recogida de heces sobre el CDA de la proteína de distintas dietas experimentales.

	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Presión abdominal	96.04 ^a ± 0.24(3)	85.34 ^a ± 0.33(3)	83.27 ^a ± 2.04(3)	86.51 ^a ± 0.24(3)	82.35 ^a ± 1.28(3)	86.82 ^a ± 0.22(3)	82.93 ^a ± 0.20(3)
S. Guelph modificado	97.23 ^b ± 0.19(5)	88.34 ^b ± 0.47(5)	81.18 ^a ± 0.48(5)	85.18 ^a ± 0.55(5)	87.26 ^b ± 0.46(5)	88.93 ^b ± 0.48(5)	86.23 ^b ± 0.42(5)

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Los valores entre paréntesis indican el número de muestras.

La figura que se expone a continuación corresponde a la relación entre los valores del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína, de las distintas dietas experimentales, calculados a partir de heces obtenidas por presión abdominal y mediante la columna de sedimentación modificada, y que se comentará en el apartado de Discusión correspondiente.

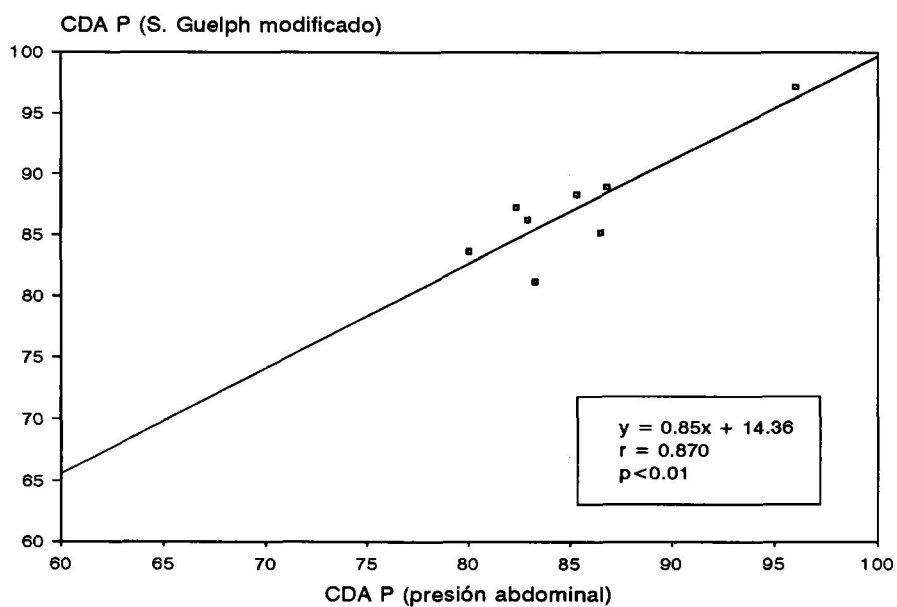


Fig. 4.1. Relación entre el CDA de la proteína de distintas dietas experimentales calculado a partir de heces obtenidas mediante presión abdominal o mediante el Sistema Guelph modificado.

4.1.2. INFLUENCIA DEL MARCADOR INERTE DIETARIO SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

En la Tabla 4.7 se expresa la composición en macronutrientes y el contenido en diferentes marcadores inertes de las heces procedentes de animales alimentados con una dieta control.

Tabla 4.7. Composición en macronutrientes y contenido en Cr₂O₃, CIA y Fibra bruta de las heces procedentes de una dieta control (% s/ss).

Proteína	20.67 ± 0.43
Grasa	3.84 ± 0.12
Cenizas	31.39 ± 0.39
H. Carbono	27.73 ± 0.53
Energía (MJ/Kg)	15.16 ± 0.11
Cr ₂ O ₃	1.14 ± 0.02
CIA	3.30 ± 0.06
Fibra bruta	16.37 ± 0.12

En todos los casos n=5 (n: muestras de heces).

Los CDA de los macronutrientes constituyentes de una dieta control, determinados utilizando tres clases de marcadores: sesquióxido de cromo, ceniza insoluble en ácido y fibra bruta, se expresan en la Tabla 4.8.

Como se puede observar, los valores obtenidos al determinar los Coeficientes de Digestibilidad Aparente, usando como marcador inerte las cenizas insolubles en ácido, son significativamente mayores que cuando se utilizan como marcadores el sesquióxido de cromo o la fibra bruta, no existiendo diferencias significativas cuando se comparan los valores de CDA de la proteína y la grasa obtenidos usando estos últimos.

Tabla 4.8. Influencia del marcador inerte sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la energía de una dieta control.

	Cr ₂ O ₃	CIA	Fibra
CDA proteína	83.65 ^a ± 0.78	87.02 ^b ± 0.83	82.25 ^a ± 0.68
CDA grasa	88.00 ^a ± 0.31	90.99 ^b ± 0.11	87.26 ^a ± 0.39
CDA MELN	54.55 ^b ± 0.40	65.27 ^c ± 0.68	50.54 ^a ± 0.64
CDA HC	65.00 ^b ± 0.33	73.46 ^c ± 0.35	61.90 ^a ± 0.80
CDA energía	74.34 ^b ± 0.45	80.13 ^c ± 0.66	72.10 ^a ± 0.21

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=5$.

Cuando expresamos los resultados obtenidos al determinar el CDA de los macronutrientes de distintas dietas experimentales mediante la utilización de sesquióxido de cromo, cenizas insolubles en ácido o fibra bruta (Tabla 4.9), encontramos que se siguen manteniendo las mismas diferencias significativas entre los CDA obtenidos al utilizar los tres marcadores para todas las dietas, excepto para la formulada con caseína (CA100), girasol y soja. El CDA de la proteína y grasa de la dieta formulada con caseína (CA100) y el CDA de la grasa de la dieta que incluye harina de girasol (G) presentan unos valores semejantes cuando se comparan las tres formas de determinación. En la dieta que contiene harina de soja, el CDA de la grasa sólo es significativamente inferior cuando se determina mediante el análisis de fibra; por otra parte, los CDA del resto de macronutrientes y de la energía de las dietas G y S, muestran valores diferentes al utilizar los distintos marcadores, correspondiendo los menores valores a aquellos obtenidos con la fibra bruta, seguidos por el Cr₂O₃.

La composición detallada de las heces procedentes de estas dietas, queda reflejada en la Tabla 4.21 (apartado 4.5, pg. 138).

Tabla 4.9. Influencia del marcador inerte sobre la determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la energía de distintas dietas experimentales.

	CDA P			CDA G			CDA MELN			CDA HC			CDA E		
	Cr ₂ O ₃	CIA	Fibra	Cr ₂ O ₃	CIA	Fibra	Cr ₂ O ₃	CIA	Fibra	Cr ₂ O ₃	CIA	Fibra	Cr ₂ O ₃	CIA	Fibra
CA100	97.23 ^a ± 0.19	97.53 ^a ± 0.16	97.21 ^a ± 0.12	93.59 ^a ± 1.04	93.74 ^a ± 1.16	92.05 ^a ± 0.88	41.42 ^a ± 1.61	50.41 ^b ± 1.17	40.61 ^a ± 0.16	64.94 ^a ± 0.82	70.47 ^b ± 0.65	64.43 ^a ± 0.25	77.81 ^a ± 0.78	81.18 ^b ± 0.76	77.52 ^a ± 0.20
CA40	88.34 ^a ± 0.47	90.87 ^b ± 0.42	86.68 ^a ± 0.66	93.58 ^a ± 0.33	94.95 ^b ± 0.28	92.24 ^a ± 0.19	53.90 ^b ± 1.16	64.06 ^c ± 0.78	48.22 ^a ± 0.55	67.43 ^b ± 0.95	75.53 ^c ± 0.89	60.72 ^a ± 0.74	77.44 ^b ± 0.50	82.60 ^c ± 0.25	74.66 ^a ± 0.04
A	81.18 ^a ± 0.48	91.88 ^b ± 0.49	81.59 ^a ± 0.63	93.39 ^a ± 0.26	96.94 ^b ± 0.95	92.16 ^a ± 0.29	35.52 ^a ± 1.60	72.21 ^b ± 0.77	37.04 ^a ± 0.79	53.33 ^a ± 1.73	80.11 ^b ± 0.70	54.46 ^a ± 1.16	68.75 ^a ± 0.57	86.28 ^b ± 0.45	69.47 ^a ± 0.20
ALT	85.18 ^a ± 0.55	90.99 ^b ± 0.45	84.55 ^a ± 0.30	88.69 ^a ± 0.65	93.24 ^b ± 0.60	88.56 ^a ± 0.50	11.67 ^a ± 2.27	47.04 ^b ± 1.78	7.84 ^a ± 0.49	15.78 ^a ± 2.34	49.35 ^b ± 2.02	12.14 ^a ± 0.75	62.74 ^a ± 1.14	77.52 ^b ± 0.69	61.14 ^a ± 0.51
G	87.26 ^b ± 0.46	90.71 ^c ± 0.35	83.58 ^a ± 0.25	91.97 ^a ± 0.79	93.44 ^a ± 0.58	90.41 ^a ± 0.65	43.22 ^b ± 1.18	59.20 ^c ± 0.48	26.60 ^a ± 0.47	55.36 ^b ± 1.06	68.26 ^c ± 0.32	36.55 ^a ± 0.85	73.39 ^b ± 0.63	80.55 ^c ± 0.34	65.61 ^a ± 0.29
GL	88.93 ^a ± 0.48	93.47 ^b ± 0.23	88.71 ^a ± 0.47	91.39 ^a ± 0.43	94.97 ^b ± 0.17	92.08 ^a ± 0.41	44.78 ^a ± 0.76	64.78 ^b ± 0.34	43.78 ^a ± 0.60	60.54 ^a ± 0.85	74.49 ^b ± 0.41	59.83 ^a ± 0.82	75.57 ^a ± 0.23	84.73 ^b ± 0.17	75.13 ^a ± 0.13
S	86.23 ^b ± 0.42	88.97 ^c ± 0.51	78.69 ^a ± 0.30	92.94 ^b ± 0.56	95.08 ^b ± 0.24	89.16 ^a ± 1.07	52.05 ^b ± 1.48	61.56 ^c ± 0.50	25.87 ^a ± 0.37	61.65 ^b ± 1.35	69.66 ^c ± 0.17	40.70 ^a ± 0.61	76.90 ^b ± 0.56	81.35 ^c ± 0.16	64.24 ^a ± 0.12

Los valores, en la misma fila y para el CDA de cada macronutriente, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=5$ (cinco muestras de heces por dieta).

La figura que se expresa a continuación, corresponde a la relación existente entre el CDA de la proteína de las dietas experimentales calculado usando como marcador inerte el sesquióxido de cromo o las cenizas insolubles en ácido. Dicha figura se comentará en el apartado de discusión correspondiente de este ensayo.

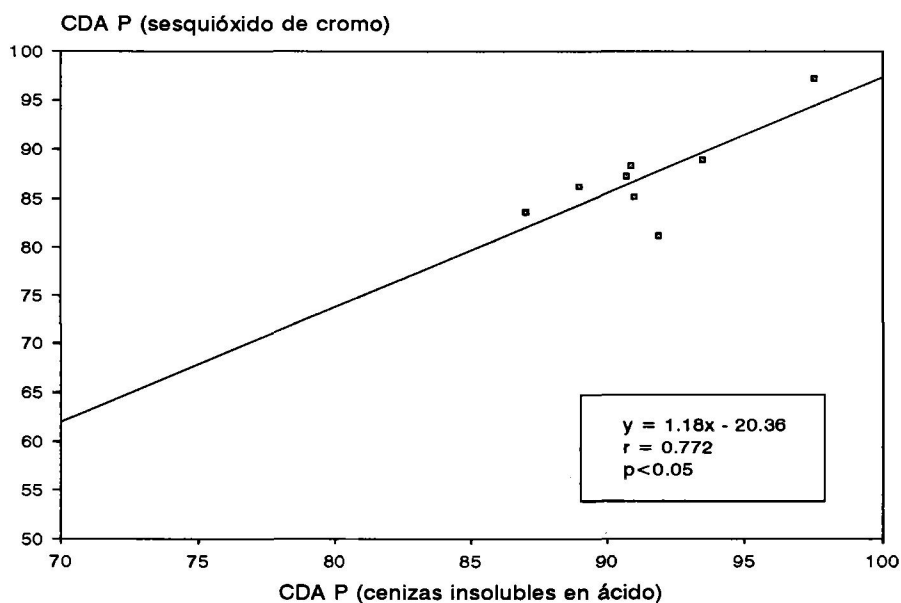
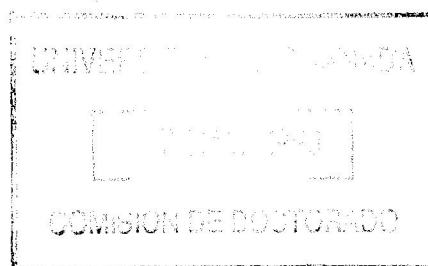


Fig. 4.2. Relación entre el CDA de la proteína de distintas dietas experimentales calculado usando como marcador inerte el sesquióxido de cromo o las cenizas insolubles en ácido.



4.1.3. INFLUENCIA DE DIFERENTES AGLUTINANTES DIETARIOS SOBRE EL USO DIGESTIVO DE LOS NUTRIENTES

En la Tabla 4.10 se recogen los resultados en cuanto a crecimiento, ingesta e índice de conversión del alimento, obtenidos para los animales alimentados con tres dietas de idéntica composición pero que incluían distinto aglutinante.

Tabla 4.10. Influencia del aglutinante dietario sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento.

	Nº peces	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	Ingesta (%peso.dia ⁻¹)	Incr. Peso (% pmi)	TCI	IC
ALG	40	38.00 ^a ± 0.17	62.58 ^a ± 0.60	2.23 ^a ± 0.04	64.68 ^a ± 0.90	2.37 ^a ± 0.03	1.04 ^a ± 0.01
CMC	40	38.06 ^a ± 0.14	62.90 ^a ± 0.32	2.24 ^a ± 0.01	65.24 ^a ± 0.76	2.39 ^a ± 0.02	1.04 ^a ± 0.01
C941	39	38.96 ^a ± 0.45	64.20 ^a ± 0.30	2.21 ^a ± 0.02	64.82 ^a ± 1.16	2.38 ^a ± 0.03	1.05 ^a ± 0.01

Los valores, en la misma columna, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (tres lotes de animales por dieta).

Como se puede observar, los resultados obtenidos fueron muy similares para las tres dietas experimentales, no existiendo diferencias significativas entre ninguno de los parámetros e índices determinados.

En la Tabla 4.11 se expresa la composición en macronutrientes y Mn²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺ y Cu²⁺, de las heces procedentes de animales alimentados con las distintas dietas experimentales.

Tabla 4.11. Composición en macronutrientes y contenido en Cr_2O_3 , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} y Cu^{2+} de las heces procedentes de dietas que inclufan distinto aglutinante (% s/ss).

	ALG	CMC	C941
Proteína	22.24 ± 0.09	21.54 ± 0.26	22.51 ± 0.17
Grasa	2.99 ± 0.02	3.01 ± 0.02	3.43 ± 0.08
Cenizas	36.53 ± 0.25	36.17 ± 0.31	34.12 ± 0.28
Mn^{2+}	0.34 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.36 ± 0.01
Mg^{2+}	0.47 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.51 ± 0.01
Zn^{2+} (ppm)	605.80 ± 32.15	560.33 ± 14.11	557.80 ± 33.17
Cu^{2+} (ppm)	82.80 ± 4.03	81.50 ± 8.39	98.20 ± 8.68
Cr_2O_3	1.32 ± 0.01	1.34 ± 0.01	1.34 ± 0.01

En todos los casos $n=5$ (n : muestras de heces).

En la Tabla 4.12 quedan reflejados los valores del Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes de las distintas dietas así como el porcentaje de absorción de los minerales estudiados.

Como se puede observar, al comparar los resultados obtenidos, en cuanto al uso digestivo que los animales realizan de los distintos nutrientes dietarios, cuando se incorporó como aglutinante alginato sódico, carboximetil celulosa o carbapol 941 en las distintas dietas, no se encontraron diferencias significativas. Tampoco se pusieron de manifiesto cambios significativos en la absorción de minerales como consecuencia del aglutinante dietario utilizado.

Tabla 4.12. Influencia del aglutinante dietario sobre el uso digestivo de los macronutrientes y la absorción de minerales.

	ALG	CMC	C941
CDA protefna	84.01 ^a ± 0.78	85.04 ^a ± 0.63	84.06 ^a ± 0.55
CDA grasa	92.23 ^a ± 0.96	92.61 ^a ± 0.75	91.53 ^a ± 0.62
CDA MO	77.30 ^a ± 0.72	78.08 ^a ± 1.24	76.83 ^a ± 0.75
CDA MS	69.69 ^a ± 0.86	70.89 ^a ± 0.99	70.14 ^a ± 0.77
% Absorción Mn ²⁺	64.99 ^a ± 0.97	66.10 ^a ± 0.97	63.36 ^a ± 1.35
% Absorción Mg ²⁺	51.59 ^a ± 2.55	52.19 ^a ± 1.99	48.92 ^a ± 1.64
% Absorción Zn ²⁺	42.81 ^a ± 1.11	45.62 ^a ± 1.24	43.83 ^a ± 1.17
% Absorción Cu ²⁺	91.06 ^a ± 0.54	92.33 ^a ± 0.82	89.87 ^a ± 1.04

Los valores, en la misma fila, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=5 (cinco muestras de heces procedentes de cada dieta).

4.2. CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA MEDIANTE EL METODO DE SUSTITUCION DE UNA DIETA DE REFERENCIA. COMPROBACION MEDIANTE CONTROL CRUZADO

Cuando se realizó el cálculo indirecto del CDA de la proteína de harina de pescado y caseína, usando como control cruzado la dieta CA40, se obtuvieron los resultados (Tabla 4.13) que muestran el hecho de que no existen diferencias significativas al compararlos con los obtenidos directamente.

Tabla 4.13. Cálculo indirecto del CDA de la proteína de harina de pescado y caseína.

	CDA P directo	CDA P indirecto
H. Pescado	83.65 ^a ± 0.78	82.41 ^a ± 0.77
Caseína	97.23 ^a ± 0.19	95.37 ^a ± 1.16

Los valores, en la misma fila, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=5 (cinco muestras de heces procedentes de cada dieta).

4.3. DETERMINACION DE LA EXCRECION ENDOGENA DE PROTEINA Y CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD VERDADERO DE LA PROTEINA DIETARIA

En la Tabla 4.14 se expresan los valores correspondientes a la excreción endógena de proteína, expresados como porcentaje de heces.

Cuando en el Ensayo 7 determinamos el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína de distintas dietas experimentales y, a partir de la excreción endógena de proteína, calculamos el Coeficiente de Digestibilidad Verdadero, encontramos que, si bien este último es más alto, como es lógico, las diferencias no llegan a ser significativas, salvo en el caso de la dieta en la que la proteína era aportada totalmente por la caseína (CA100). Los resultados quedan reflejados en la Tabla 4.15.

Tabla 4.14. Contenido en proteína endógena de las heces procedentes de una dieta carente de proteína.

Peso lote (g)	1052 ± 3.60 (3)
Ingesta (%pm.día ⁻¹)	0.68 ± 0.01 (3)
Proteína endógena (% heces ss)	1.32 ± 0.05 (4)

Los valores entre paréntesis indican el número de muestras (3: número de lotes de animales, 4: muestras de heces)

Tabla 4.15. Coeficiente de Digestibilidad Aparente y Verdadero de la proteína de distintas dietas experimentales.

	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
CD aparente	83.65 ^a ± 0.78	97.23 ^a ± 0.19	88.34 ^a ± 0.46	81.18 ^a ± 0.48	85.18 ^a ± 0.55	87.26 ^a ± 0.46	88.93 ^a ± 0.48	86.23 ^a ± 0.42
CD verdadero	84.71 ^a ± 0.77	98.13 ^b ± 0.17	89.33 ^a ± 0.44	82.48 ^a ± 0.49	86.65 ^a ± 0.52	88.37 ^a ± 0.42	89.91 ^a ± 0.48	87.18 ^a ± 0.40

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes (p < 0.05). En todos los casos n=5 (cinco muestras de heces procedentes de cada dieta).

4.4. INFLUENCIA DEL METODO DE DETERMINACION DEL CONTENIDO CALORICO CORPORAL SOBRE LA EVALUACION DEL RENDIMIENTO ENERGETICO DE LA DIETA

En la Tabla 4.16 se expresa el valor calórico de la proteína y la grasa corporal, determinados directamente, por combustión en bomba calorimétrica, o indirectamente a partir de la composición corporal y el contenido energético de los animales.

Tabla 4.16. Valor calórico de la proteína y la grasa corporal de animales alimentados con distintas dietas experimentales.

	Factores calóricos directos ¹ e indirectos ²								
	FCP B ¹			FCG B ¹			FCG I ²		
Valor calórico (KJ/g)	23.46 ± 0.31			36.66 ^a ± 0.60			35.29 ^a ± 0.73		
	Inicial	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Valor calórico grasa (KJ/g) ^{2*}	33.87 ^a ± 0.60	35.75 ^{bcd} ± 0.34	35.03 ^{abc} ± 0.41	34.78 ^{ab} ± 0.31	35.39 ^{bcd} ± 0.64	35.24 ^{bc} ± 0.25	34.26 ^a ± 0.24	35.83 ^{cd} ± 0.26	36.20 ^d ± 0.37

FCP B: Valor calórico obtenido al quemar la fracción proteica de los animales control en bomba calorimétrica (n=10).
 FCG B: Valor calórico obtenido al quemar la fracción grasa de los animales control en bomba calorimétrica (n=15).
 FCG I: Valor calórico indirecto de la grasa, calculado en base a la composición corporal de los animales y al contenido energético de los mismos. Dicho valor corresponde a la media de los obtenidos en los animales del punto inicial y en los alimentados con cada dieta (2*). En este caso, se adjudicó a la proteína el valor calórico estándar 23.64 (n=125).
 Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Como se puede observar, no se encontraron diferencias significativas entre el valor calórico de la grasa corporal obtenido en bomba calorimétrica (FCG B) y el valor medio de los calculados indirectamente (FCG I). En este último caso, sí se observó una dispersión del valor calórico de la grasa corporal dependiendo de la dieta que ingirieron los animales.

Al calcular indirectamente la retención energética de los lotes experimentales, con los factores calóricos determinados en bomba calorimétrica para la proteína y la grasa corporal o con los establecidos como estándar, se observó que, en este último caso, respecto a la retención calculada directamente a partir del valor calórico corporal obtenido en bomba calorimétrica, se producía una sobrevaloración de dicha retención energética (Tabla 4.17).

Tabla 4.17. Retención energética, calculada de forma directa o mediante la aplicación de factores calóricos para la proteína y la grasa, en los animales alimentados con distintas dietas experimentales (MJ/Kg dieta).

	RBC	RFD	RFE
C	6.04	6.14	6.36
CA100	6.43	6.36	6.59
CA40	6.65	6.67	6.91
A	6.61	6.80	7.04
ALT	7.58	7.72	8.03
G	5.74	5.87	6.08
GL	6.47	6.15	6.38
S	6.95	7.07	7.35

RBC: Cálculo directo quemando muestras de los animales en bomba calorimétrica.

RFD: Retención determinada adjudicando a la proteína y la grasa los factores calóricos directos FCP B y FCG B, respectivamente.

RFE: Retención determinada adjudicando a la proteína y la grasa el factor calórico estándar 23.64 y 39.54, respectivamente.

4.5. VALORACION NUTRITIVA DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS. REPERCUSIONES NUTRITIVAS DERIVADAS DE SU INCLUSION COMO FUENTES DE PROTEINA SUSTITUYENDO PARCIAL O TOTALMENTE A LA HARINA DE PESCADO

En la Tabla 4.18 se expresan los valores de ingesta, crecimiento e índice de conversión presentados por los animales, alimentados con las distintas dietas experimentales, en los tres subperiodos en que se dividió el experimento.

Por lo que respecta a la evolución de la ingesta (% peso medio.día⁻¹), los resultados ponen de manifiesto que, para gran parte de las dietas, ésta se mantiene constante a lo largo del periodo experimental; sin embargo, en las dietas CA40, A y ALT, este parámetro se reduce de forma significativa en el último subperiodo. Como caso excepcional se encuentra la dieta fabricada con gluten de maíz, que es ingerida en mayor cantidad a medida que transcurre el tiempo.

El incremento de peso (% peso inicial) presentado por los animales en cada subperiodo, refleja una tendencia a disminuir de forma estadísticamente significativa conforme transcurre el periodo experimental. Sólo los animales alimentados con las dietas G, GL y S muestran un comportamiento diferente. En el caso de la dieta G, el incremento de peso que promueve en los animales es de la misma magnitud en cada uno de los subperiodos. Los animales alimentados con las dietas GL y S, tras presentar en el SP2 un incremento de peso similar (S) o mayor (GL) al presentado en el primer subperiodo, en el SP3 incrementan su peso en la misma magnitud que en el primero.

Por último, la tendencia encontrada para el Índice de Conversión del alimento, en los distintos lotes de animales, es la de disminuir a medida que transcurre el periodo experimental.

Tabla 4.18. Incremento de peso, ingesta e índice de conversión obtenidos, para los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales, en cada uno de los subperiodos (SP) en que se dividió el periodo experimental.

	INCREMENTO DE PESO (% peso inicial de cada SP)			INGESTA (% pm.dfa ⁻¹ de cada SP)			IC		
	SP1	SP2	SP3	SP1	SP2	SP3	SP1	SP2	SP3
C	40.94 ^b ± 3.33	35.79 ^b ± 2.36	19.97 ^a ± 2.55	1.83 ^a ± 0.11	1.95 ^a ± 0.04	1.78 ^a ± 0.09	1.31 ^b ± 0.11	1.11 ^b ± 0.06	0.72 ^a ± 0.05
CA100	32.39 ^b ± 4.18	36.09 ^b ± 2.12	15.66 ^a ± 1.81	1.33 ^a ± 0.03	1.56 ^a ± 0.07	1.35 ^a ± 0.07	1.49 ^b ± 0.12	1.40 ^b ± 0.01	0.73 ^a ± 0.01
CA40	47.00 ^c ± 0.58	33.61 ^b ± 2.06	15.11 ^a ± 0.78	1.87 ^b ± 0.02	1.80 ^b ± 0.07	1.47 ^a ± 0.03	1.46 ^c ± 0.01	1.14 ^b ± 0.02	0.68 ^a ± 0.02
A	41.93 ^c ± 2.45	35.07 ^b ± 0.74	21.38 ^a ± 0.49	2.11 ^b ± 0.03	2.19 ^b ± 0.03	1.84 ^a ± 0.01	1.17 ^c ± 0.05	0.97 ^b ± 0.02	0.75 ^a ± 0.01
ALT	48.88 ^c ± 2.15	38.50 ^b ± 1.19	23.32 ^a ± 1.86	2.48 ^b ± 0.07	2.40 ^b ± 0.03	2.04 ^a ± 0.01	1.13 ^c ± 0.04	0.96 ^b ± 0.01	0.73 ^a ± 0.02
G	30.31 ^a ± 3.57	36.13 ^a ± 0.66	25.53 ^a ± 1.87	1.91 ^a ± 0.06	2.12 ^a ± 0.05	2.10 ^a ± 0.05	0.97 ^b ± 0.07	1.04 ^b ± 0.04	0.77 ^a ± 0.04
GL	28.67 ^a ± 2.45	36.63 ^b ± 0.16	25.61 ^a ± 2.32	1.53 ^a ± 0.07	1.84 ^b ± 0.05	1.85 ^b ± 0.05	1.17 ^b ± 0.04	1.20 ^b ± 0.03	0.87 ^a ± 0.05
S	33.92 ^{ab} ± 1.98	38.20 ^b ± 1.40	30.26 ^a ± 1.13	2.07 ^a ± 0.06	2.17 ^a ± 0.03	2.19 ^a ± 0.04	1.00 ^b ± 0.05	1.05 ^b ± 0.01	0.86 ^a ± 0.01

SP1: días 0 a 14; SP2: días 15 a 28; SP3: días 29 a 42.

Los valores, en la misma fila y para cada índice o parámetro, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (tres lotes de animales para cada dieta).

La Tabla 4.19 recoge los resultados de crecimiento, ingesta e índice de conversión del alimento, referidos a la totalidad del periodo experimental.

Tabla 4.19. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento.

	N° peces	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	Ingesta (%peso.día ⁻¹)	Incr. Peso (% pmi)	TCI	IC
C	38	38.53 ^a ± 0.10	88.26 ^{ab} ± 1.58	1.86 ^c ± 0.05	129.07 ^{ab} ± 4.45	1.97 ^{ab} ± 0.05	1.00 ^{bc} ± 0.01
CA100	37	40.53 ^a ± 0.01	84.59 ^a ± 4.76	1.43 ^a ± 0.06	108.70 ^a ± 11.74	1.74 ^a ± 0.13	1.17 ^e ± 0.03
CA40	37	40.10 ^a ± 0.79	90.82 ^{ab} ± 1.75	1.73 ^b ± 0.03	126.57 ^{ab} ± 4.26	1.94 ^{ab} ± 0.04	1.06 ^d ± 0.01
A	37	40.48 ^a ± 0.80	94.16 ^b ± 1.44	2.03 ^d ± 0.02	132.66 ^b ± 3.04	2.01 ^{bc} ± 0.03	0.92 ^a ± 0.01
ALT	40	37.58 ^a ± 0.56	95.22 ^b ± 1.05	2.26 ^e ± 0.01	153.48 ^c ± 5.10	2.21 ^c ± 0.05	0.92 ^a ± 0.02
G	40	38.58 ^a ± 1.22	85.70 ^a ± 2.26	1.99 ^d ± 0.03	122.48 ^{ab} ± 8.20	1.90 ^{ab} ± 0.09	0.90 ^a ± 0.02
GL	39	38.17 ^a ± 0.42	84.03 ^a ± 2.45	1.70 ^b ± 0.04	120.24 ^{ab} ± 7.29	1.88 ^{ab} ± 0.08	1.05 ^{cd} ± 0.01
S	40	37.97 ^a ± 1.15	91.49 ^{ab} ± 2.49	2.06 ^d ± 0.01	141.03 ^{bc} ± 2.22	2.09 ^{bc} ± 0.02	0.95 ^{ab} ± 0.01

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (tres lotes de animales por dieta).

Por lo que respecta a la cantidad de alimento ingerido (expresado en %peso medio.día⁻¹), los mayores valores corresponden a la dieta que incluye harina de altramuz, seguidos por las que incluyen algodón, girasol y soja, que a su vez también son superiores al de la dieta control, y ésta a los de las dietas formuladas con gluten de maíz y caseína (CA40). La dieta formulada con caseína como única fuente de proteína (CA100) ha sido la ingerida en menor proporción. Todas las diferencias indicadas son estadísticamente significativas.

Los resultados obtenidos al determinar el crecimiento de los animales, muestran

que han sido aquellos alimentados con las dietas que contienen harina de altramuz y harina de soja los que más han crecido, seguidos por los que ingirieron el resto de las dietas (experimentales y control), que a su vez no presentan diferencias entre sí; el crecimiento en estos últimos animales no fue estadísticamente distinto del presentado por los que ingirieron la dieta con harina de soja, salvo en el caso de los que ingirieron la dieta CA100 que sí presentaron diferencias significativas con respecto a ésta.

Cuando se expresa el incremento de peso en función de la dieta ingerida (IC), encontramos que la eficacia de las distintas dietas para promover crecimiento ha sido diferente. Así, las dietas formuladas con caseína han sido las que mejor IC han promovido, existiendo diferencias significativas con respecto a la dieta control. Los Índices de Conversión correspondientes a las dietas con harina de soja y gluten de maíz fueron semejantes al de la dieta control. Por último, las dietas fabricadas con harina de girasol, harina de altramuz y harina de algodón dieron como resultado Índices de Conversión significativamente inferiores al de la dieta control.

En la tabla 4.20 se expresan los índices biométricos obtenidos para los animales alimentados con cada una de las dietas experimentales. Los resultados obtenidos al final del periodo experimental en el Índice de Nutrición (IN) no manifiestan diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los animales que constituyen los distintos lotes experimentales; si bien, cuando se comparan los valores finales de este índice con el presentado por los animales en el punto inicial del periodo experimental, sí aparecen diferencias significativas, siendo los valores finales superiores.

Los valores de Relación Hepatosomática (RHS) de los animales pertenecientes a los lotes alimentados con las dietas A, ALT, G y GL, al final del periodo experimental, fueron semejantes al obtenido para los animales al inicio del ensayo, y estadísticamente inferiores a los presentados por los animales alimentados con las dietas C, CA100, CA40 y S, salvo en el caso de los alimentados con la dieta GL, que no presentaron diferencias significativas con respecto al resto de lotes experimentales para este índice.

Tabla 4.20. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la Relación Hepatosomática y el Índice de Nutrición.

	Peso trucha	Peso digestivo	Peso hígado	Longitud (cm)	RHS	IN
Inicial	39.16 ± 0.92	1.83 ± 0.06	0.48 ± 0.01	15.94 ± 0.16	1.24 ^a ± 0.05	9.67 ^a ± 0.19

C	78.10 ± 5.58	5.33 ± 0.54	1.39 ± 0.12	18.29 ± 0.30	1.76 ^c ± 0.07	12.51 ^b ± 0.48
CA100	85.68 ± 4.34	4.13 ± 0.35	1.49 ± 0.17	18.89 ± 0.31	1.64 ^{bc} ± 0.12	12.57 ^b ± 0.21
CA40	96.45 ± 5.13	4.94 ± 0.39	1.68 ± 0.14	19.65 ± 0.26	1.72 ^{bc} ± 0.09	12.53 ^b ± 0.24
A	94.65 ± 3.08	4.32 ± 0.15	1.17 ± 0.08	19.37 ± 0.22	1.24 ^a ± 0.07	12.99 ^b ± 0.20
ALT	98.77 ± 3.13	5.13 ± 0.21	1.28 ± 0.08	16.65 ± 0.16	1.29 ^a ± 0.06	12.98 ^b ± 0.25
G	79.66 ± 3.29	4.51 ± 0.32	1.04 ± 0.08	18.58 ± 0.23	1.29 ^a ± 0.06	12.36 ^b ± 0.21
GL	87.27 ± 3.15	4.78 ± 0.30	1.31 ± 0.09	18.78 ± 0.19	1.48 ^{ab} ± 0.06	13.11 ^b ± 0.25
S	92.21 ± 2.81	5.84 ± 0.44	1.44 ± 0.11	19.58 ± 0.24	1.56 ^{bc} ± 0.11	12.32 ^b ± 0.38

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En el punto inicial $n=20$, en el punto final $n=15$ (para cada dieta) (n : número de animales, los valores de peso se expresan en gramos).

En la Tabla 4.21 se expresa la composición en macronutrientes y el contenido en cada uno de los marcadores inertes de las heces procedentes de las distintas dietas experimentales ensayadas; en la misma también se incluye el contenido en cenizas insolubles en ácido (CIA) ya que, aunque en este ensayo este dato no es necesario, pues la utilización digestiva se estudiará a partir de los datos obtenidos usando el sesquióxido de cromo como marcador, sí ha sido usado en el Ensayo 2 para el cálculo del CDA y, debido a que, en este último, el resto de datos incluidos en la Tabla 4.21 también eran necesarios para los cálculos, en el apartado de Resultados correspondiente a dicho

ensayo (4.1.2, pg. 122) no se han incluido éstos, remitiéndonos a la Tabla incluida en esta página.

Tabla 4.21. Composición en macronutrientes y contenido de Cr_2O_3 de las heces procedentes de distintas dietas experimentales (% s/ss).

	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
Proteína	20.67 ± 0.43	4.06 ± 0.17	15.88 ± 0.66	19.23 ± 0.66	13.36 ± 0.26	15.50 ± 0.24	14.55 ± 0.60	18.98 ± 0.27
Grasa	3.84 ± 0.12	2.46 ± 0.34	1.95 ± 0.12	1.72 ± 0.08	2.60 ± 0.10	2.58 ± 0.24	3.01 ± 0.14	2.58 ± 0.25
Cenizas	31.39 ± 0.39	10.70 ± 0.29	27.92 ± 0.23	25.39 ± 0.29	18.51 ± 0.52	26.88 ± 0.27	22.66 ± 0.16	25.56 ± 0.27
Fibra bruta	16.37 ± 0.16	51.59 ± 0.42	26.92 ± 0.17	27.26 ± 0.12	25.17 ± 0.25	27.82 ± 0.22	28.52 ± 0.34	25.99 ± 0.16
H. Carbono	27.73 ± 0.53	31.29 ± 0.22	27.26 ± 0.90	26.39 ± 0.67	40.37 ± 0.34	27.22 ± 0.38	31.26 ± 0.64	26.89 ± 0.27
Energía (MJ/Kg)	15.16 ± 0.11	16.60 ± 0.15	14.54 ± 0.13	15.24 ± 0.10	15.89 ± 0.21	15.62 ± 0.13	15.60 ± 0.08	15.20 ± 0.05
Cr_2O_3	1.14 ± 0.02	1.33 ± 0.04	1.15 ± 0.02	0.92 ± 0.01	0.79 ± 0.02	1.05 ± 0.02	1.09 ± 0.01	1.17 ± 0.03
CIA	3.30 ± 0.22	3.73 ± 0.14	3.58 ± 0.09	2.76 ± 0.11	2.19 ± 0.16	3.33 ± 0.26	2.96 ± 0.13	2.13 ± 0.25

En todos los casos n=5 (cinco muestras de heces procedentes de cada dieta).

En la tabla 4.22 se expresan los resultados obtenidos al determinar los índices de utilización digestiva (CDA) de los macronutrientes y la materia seca de las diferentes dietas experimentales.

La proteína de la dieta CA100 fue la que mayor Coeficiente de Digestibilidad Aparente presentó; por el contrario, la dieta con harina de algodón (A) resultó ser la que contenía una proteína de inferior calidad a nivel digestivo. La digestibilidad de la proteína de harina de pescado utilizada en estos ensayos, si bien fue mayor que la

Tabla 4.22. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la dieta y sus macronutrientes.

	Coeficientes de Digestibilidad Aparente					
	P	G	MELN	HC	MO	MS
C	83.65 ^b ± 0.78	88.00 ^a ± 0.31	54.55 ^d ± 0.40	65.00 ^d ± 0.33	73.24 ^{de} ± 0.43	66.92 ^{cd} ± 0.57
CA100	97.23 ^g ± 0.19	93.59 ^c ± 1.04	41.43 ^e ± 1.61	64.94 ^d ± 0.82	72.75 ^{cde} ± 0.88	71.28 ^f ± 0.86
CA40	88.34 ^{ef} ± 0.47	93.58 ^c ± 0.33	53.90 ^d ± 1.16	67.43 ^d ± 0.95	74.44 ^e ± 0.52	68.49 ^{de} ± 0.60
A	81.18 ^a ± 0.48	93.39 ^c ± 0.26	35.52 ^b ± 1.59	53.33 ^b ± 1.73	64.70 ^b ± 0.52	58.89 ^b ± 0.53
ALT	85.18 ^c ± 0.55	88.69 ^a ± 0.65	11.67 ^a ± 2.27	15.78 ^a ± 2.34	56.31 ^a ± 1.21	53.10 ^a ± 1.08
G	87.26 ^{de} ± 0.46	91.97 ^{bc} ± 0.79	43.22 ^c ± 1.18	55.36 ^b ± 1.06	70.88 ^c ± 0.67	65.72 ^c ± 0.68
GL	88.93 ^f ± 0.48	91.39 ^b ± 0.43	44.78 ^c ± 0.76	60.54 ^c ± 0.86	71.82 ^{cd} ± 0.30	67.59 ^{cde} ± 0.32
S	86.23 ^{cd} ± 0.42	92.94 ^{bc} ± 0.56	52.05 ^d ± 1.48	61.65 ^c ± 1.35	73.83 ^{de} ± 0.71	69.47 ^{ef} ± 0.81

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=5$ (cinco muestras de heces por dieta).

de la dieta de algodón, cuando se compara con la del resto de las dietas, es inferior. El CDA de la proteína de la dieta con harina de altramuza (ALT) es igual al de la dieta con harina de soja (S), y este último semejante al de la dieta con harina de girasol (G). El CDA de la proteína de la dieta G es superior al de la dieta ALT e igual al de la dieta CA40. Por último, el CDA de la proteína de la dieta con gluten de maíz (GL) es igual al presentado por la proteína de la dieta CA40 y superior al de la dieta G.

La grasa de las dietas control y ALT fue la peor digerida, seguida por la de las dietas con gluten de maíz, girasol y soja. Los valores de CDA de la grasa de las dietas CA100, CA 40 y A fueron superiores a los del resto de las dietas, excepto para los de las dietas con girasol y soja con las que no presentaron diferencias significativas.

La digestibilidad del componente extractivo libre de nitrógeno (MELN) (fibra e hidratos de carbono digestibles) de las dietas con harina de soja, control y con caseína sustituyendo parcialmente a la proteína de harina de pescado (CA40) fue superior a la del resto de las dietas. Por el contrario, los menores valores de digestibilidad los mostró la fracción hidrocarbonada existente en la dieta con altramuz, seguida por la de algodón. Por último, las dietas con gluten de maíz, harina de girasol y la dieta CA100 presentaron un CDA del MELN semejante entre sí.

Cuando calculamos el CDA de los hidratos de carbono digestibles, en base a descontar del alimento y de las heces el componente de fibra (determinado por análisis), encontramos que la dieta de altramuz contenía los hidratos de carbono con peor digestibilidad, en comparación con el resto, seguido por los hidratos de carbono presentes en las dietas con girasol y algodón. Por otra parte, las dietas con caseína (CA40, CA100) y la dieta control presentaron los hidratos de carbono mejor digeridos. La digestibilidad de los hidratos de carbono de las dietas con soja y gluten de maíz fue semejante entre sí.

El CDA de la materia orgánica en su conjunto, mostró que la de la dieta con harina de altramuz era la que presentaba menor digestibilidad, seguida por la de la dieta con algodón. El valor de la digestibilidad de la dieta con harina de girasol estuvo comprendido entre el de la dieta con algodón y la control. Esta última presentó, junto con las dietas con caseína, gluten de maíz y soja, los mejores valores de digestibilidad.

Finalmente, cuando se calculó el CDA de la dieta en su totalidad (CDA MS), encontramos diferencias semejantes a las existentes para el CDA de la materia orgánica, con la salvedad de que en el caso de la dieta con harina de girasol el CDA no presentó diferencias significativas con el de la dieta control ni con el de la dieta con gluten de maíz. El CDA de la dieta CA100 fue significativamente superior al resto de las dietas salvo al de la dieta con soja.

Los resultados correspondientes al Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína, los hidratos de carbono y la energía de las diferentes fuentes proteicas

ensayadas se expresan en la tabla 4.23. Asimismo, en dicha tabla se encuentran expresados los datos correspondientes al cálculo del Coeficiente de Digestibilidad Verdadero de la proteína de dichas materias primas.

Las proteínas de caseína y gluten de maíz presentaron unos valores de digestibilidad muy altos y superiores a los del resto. La proteína de algodón fue, de las fuentes de proteína utilizadas en este ensayo, la que presentó menor digestibilidad, seguida por la proteína de pescado y ésta por la de altramuz. Las harinas de soja y girasol contenían una proteína con una utilización digestiva superior a la de altramuz, pero solo existen diferencias significativas entre el Coeficiente de Digestibilidad de la proteína de girasol y altramuz.

Los hidratos de carbono de la harina de altramuz fueron muy pobremente digeridos. Valores superiores en el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de dicho macronutriente se encontraron en las harinas de algodón y girasol, seguidos por los de la harina de gluten de maíz y la harina de soja, respectivamente.

Tabla 4.23. Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la energía de las materias primas.

	CDA PF	CDV PF	CDA HCF	CDA EF
H. Pescado	83.65 ^b ± 0.78	84.71 ^b ± 0.77	-----	85.50 ^e ± 0.76
Caseína	97.23 ^e ± 0.19	98.13 ^e ± 0.17	-----	92.64 ^f ± 0.18
H. Algodón	77.47 ^a ± 1.20	79.12 ^a ± 1.23	42.95 ^b ± 3.27	64.42 ^b ± 1.36
H. Altramuz	87.48 ^c ± 1.38	89.55 ^c ± 1.31	3.72 ^a ± 0.36	57.66 ^a ± 0.98
H. Girasol	92.68 ^d ± 1.14	93.85 ^d ± 1.04	51.63 ^c ± 1.47	68.24 ^c ± 1.13
H. Gluten de maíz	96.84 ^e ± 1.21	97.71 ^e ± 1.20	54.27 ^{cd} ± 2.09	91.28 ^f ± 1.25
H. Soja	90.10 ^{cd} ± 1.06	90.89 ^{cd} ± 1.00	58.69 ^d ± 2.56	77.64 ^d ± 0.99

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes (p < 0.05). En todos los casos n=5.

La energía digestible de las materias primas se ha calculado de forma indirecta, a partir de la energía bruta de la materia prima y del Coeficiente de Digestibilidad de sus macronutrientes (apartado 3.6.2, pg. 109). Al no poder determinar el CD de la grasa de las materias primas de la misma forma que se ha realizado para el CD de proteína e hidratos de carbono de la misma, debido a la imposibilidad de discriminar entre las distintas calidades de las diferentes grasas aportadas en cada dieta, se ha adjudicado un valor semejante al presentado por el CDA de la grasa en cada una de éstas. La cantidad de grasa existente en las materias primas es mínima, por lo que el error derivado de esta consideración podría ser despreciable. Como se puede observar (Tabla 4.23), los resultados del CDA de la energía de las distintas materias primas muestran la misma dinámica que los correspondientes al CDA del componente hidrocarbonado.

Los resultados del análisis de composición corporal de los animales alimentados con las distintas dietas experimentales se expresan en la tabla 4.24.

El contenido de proteína corporal fue semejante en todos los lotes de animales. Por lo que respecta al contenido de grasa y energía corporal, los lotes alimentados con las dietas que contenían harina de soja (S) y de altramuza (ALT) presentaron los mayores valores; por el contrario, los animales alimentados con la dieta que contenía harina de girasol (G) fueron los que mostraron el menor contenido graso y energético corporal.

En cuanto al contenido en humedad, ésta se encontraba en una proporción mayor en los animales alimentados con las dietas control y G, presentando, en los animales alimentados con el resto de las dietas, valores muy similares.

Tabla 4.24. Análisis de composición corporal de los animales alimentados con distintas dietas experimentales (% s/ss; energía MJ/Kg).

	Proteína	Grasa	Cenizas	Energía	Humedad
Inicial	67.14 ± 2.16	22.13 ± 3.12	11.81 ± 0.72	23.19 ± 0.59	74.46 ± 0.78

C	64.16 ^a ± 0.84	28.68 ^a ± 1.13	9.37 ^b ± 0.25	25.09 ^{ab} ± 0.23	72.63 ^{cd} ± 0.35
CA100	63.62 ^a ± 0.82	30.16 ^{ab} ± 1.08	9.35 ^b ± 0.35	25.70 ^{bcd} ± 0.21	70.61 ^a ± 0.41
CA40	63.60 ^a ± 0.54	29.60 ^{ab} ± 0.75	8.89 ^{ab} ± 0.18	25.60 ^{bcd} ± 0.15	70.90 ^{ab} ± 0.25
A	64.96 ^a ± 0.56	29.22 ^{ab} ± 0.76	9.04 ^{ab} ± 0.12	25.06 ^{ab} ± 0.20	71.28 ^{ab} ± 0.26
ALT	62.83 ^a ± 0.64	32.10 ^b ± 0.56	8.77 ^{ab} ± 0.14	25.79 ^{cd} ± 0.16	70.62 ^a ± 0.21
G	64.75 ^a ± 0.95	28.68 ^a ± 1.18	9.31 ^b ± 0.19	24.89 ^a ± 0.23	72.78 ^d ± 0.34
GL	64.00 ^a ± 0.65	28.86 ^a ± 0.72	9.23 ^b ± 0.15	25.16 ^{abc} ± 0.26	71.79 ^{bc} ± 0.25
S	61.96 ^a ± 1.20	32.14 ^b ± 1.39	8.46 ^a ± 0.19	25.83 ^d ± 0.23	71.37 ^{ab} ± 0.45

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En el punto inicial $n=20$, en el punto final, para cada dieta, $n=15$ (n : número de animales analizados).

Los diferentes índices de utilización de la proteína a nivel digestivo y metabólico (CEC, VPP) y a nivel metabólico (VB) quedan expresados en la Tabla 4.25.

Las dietas formuladas incluyendo altramuza, algodón, girasol y soja fueron las que motivaron menor CEC. Por otra parte, la dieta que contenía caseína como única fuente proteica (CA100) promovió el mayor incremento de peso por gramo de proteína ingerida. Los valores de CEC presentados por los animales que ingirieron las dietas con gluten de maíz (GL), harina de pescado (C) y caseína, sustituyendo parcialmente a la harina de pescado (CA40), fueron intermedios con respecto a los anteriores y semejantes entre sí.

Tabla 4.25. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la utilización de la proteína dietaria.

	Ingesta (g s/ss)		Incremento peso (g s/sf)	N Corporal (g s/sf)		CEC	VPP (%)	VBA (%)	VB (%)
	Proteína	Nitrógeno		Inicial	Final				
C	803.30	128.53	1921.67	40.79	95.59	2.39 ^b ± 0.02	42.67 ^{bc} ± 0.60	51.02 ^{od} ± 0.72	50.38 ^{cd} ± 0.71
CA100	600.81	96.13	1656.67	41.79	95.06	2.74 ^c ± 0.07	55.23 ^e ± 1.33	56.80 ^f ± 1.37	56.28 ^f ± 1.36
CA40	752.10	120.34	1875.33	40.60	99.42	2.49 ^b ± 0.01	48.85 ^d ± 0.69	55.30 ^{ef} ± 0.78	54.69 ^{ef} ± 0.78
A	897.50	143.60	2003.33	41.34	104.80	2.23 ^a ± 0.01	44.17 ^c ± 0.36	54.41 ^{ef} ± 0.45	53.55 ^{ef} ± 0.44
ALT	1065.07	170.41	2306.00	41.13	112.33	2.16 ^a ± 0.04	41.79 ^{bc} ± 0.25	49.06 ^{bc} ± 0.30	48.23 ^{bc} ± 0.29
G	848.13	135.70	1839.33	41.13	94.04	2.16 ^a ± 0.06	38.93 ^a ± 0.97	44.61 ^a ± 1.12	44.05 ^a ± 1.10
GL	723.40	115.74	1791.67	40.74	94.90	2.47 ^b ± 0.03	46.71 ^d ± 1.03	52.52 ^{de} ± 1.16	51.94 ^{de} ± 1.15
S	934.43	149.51	2120.00	41.16	102.47	2.27 ^a ± 0.02	41.00 ^{ab} ± 0.60	47.54 ^b ± 0.69	47.02 ^b ± 0.68

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

La cantidad de proteína retenida respecto a la ingerida, representada por el VPP, fue máxima en la dieta CA100. Por el contrario, los menores valores en este índice los presentaron las dietas formuladas con girasol y con soja. El VPP de esta última dieta no presentó diferencias significativas al compararlo con los correspondientes a las dietas con altramuza y control, pero sí existieron cuando la comparación se hizo con la dieta que contenía girasol, que presentó un VPP inferior. El VPP de la dieta con algodón fue mayor que el de las anteriores, pero solo existieron diferencias significativas cuando se comparaba con el de la dieta con girasol y con soja. Por último, las dietas formuladas con gluten de maíz y caseína (CA40) promovieron un VPP inferior al de la dieta CA100, y superior al resto de las dietas.

Los resultados obtenidos al calcular la cantidad de proteína retenida respecto a la digerida (VBA) mostraron que fue la dieta formulada con harina de girasol la que promovió el menor índice de retención proteica, seguido por la formulada con soja. La dieta CA100 promovió el mayor VBA, junto con la dieta con algodón y CA40. El VBA presentado por la dieta que contenía gluten de maíz no fue diferente al de la dieta con algodón y CA40, pero sí al de la dieta CA100; a su vez fue superior al del resto de las dietas excepto al de la control. El VBA para la dieta control fue semejante al de la dieta con altramuza, y superior al de la dieta con soja, no existiendo diferencias cuando se comparó el VBA de la proteína de las dietas con altramuza y soja.

Las mismas diferencias indicadas anteriormente, se obtuvieron cuando se calculó el Valor Biológico real de la proteína, usando los valores de Coeficiente de Digestibilidad Verdadero de la proteína obtenidos para cada dieta.

En la Tabla 4.26 se recogen los distintos índices representativos de la utilización de la energía bruta de la dieta por los animales.

La energía bruta ingerida (MJ/Kg pez) de las diferentes dietas, al ser éstas isocalóricas, presentaron las mismas diferencias entre sí que las existentes cuando se comparó la cantidad de alimento ingerido, comentado anteriormente.

Tabla 4.26. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre el destino de la energía dietaria.

	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
CDA Energía	74.34 ^{cd} ± 0.45	77.81 ^f ± 0.78	77.44 ^{ef} ± 0.50	68.75 ^b ± 0.57	62.74 ^a ± 1.14	73.39 ^c ± 0.63	75.57 ^{de} ± 0.23	76.90 ^{ef} ± 0.56
EB (MJ/Kg dieta)	19.55	21.58	20.30	20.05	20.01	20.13	20.70	20.08
ED "	14.53 ^c ± 0.09	16.79 ^e ± 0.17	15.72 ^d ± 0.10	13.78 ^b ± 0.12	12.55 ^a ± 0.23	14.77 ^c ± 0.13	15.64 ^d ± 0.05	15.44 ^d ± 0.11
EM "	13.85 ^c ± 0.04	16.08 ^f ± 0.09	15.05 ^e ± 0.05	13.16 ^b ± 0.06	11.82 ^a ± 0.12	13.96 ^c ± 0.06	14.92 ^e ± 0.02	14.68 ^d ± 0.06
ER "	7.57 ^{ab} ± 0.39	10.60 ^d ± 0.47	9.20 ^c ± 0.29	7.69 ^{ab} ± 0.13	7.95 ^b ± 0.15	6.78 ^a ± 0.39	8.49 ^{bc} ± 0.19	8.06 ^b ± 0.07
EBI (MJ/Kg pez)	15.28 ^b ± 0.41	12.94 ^a ± 0.55	14.79 ^b ± 0.24	17.07 ^c ± 0.20	18.96 ^d ± 0.10	16.84 ^c ± 0.29	14.75 ^b ± 0.37	17.40 ^c ± 0.07
EDI "	11.36 ^b ± 0.31	10.06 ^a ± 0.43	11.45 ^b ± 0.19	11.74 ^{bc} ± 0.14	11.90 ^{bc} ± 0.06	12.36 ^c ± 0.21	11.15 ^b ± 0.28	13.38 ^d ± 0.05
EMI "	10.82 ^b ± 0.28	9.64 ^a ± 0.42	10.96 ^{bc} ± 0.19	11.21 ^{bc} ± 0.14	11.20 ^{bc} ± 0.06	11.68 ^c ± 0.21	10.63 ^b ± 0.28	12.72 ^d ± 0.05
ER "	6.04 ^{ab} ± 0.06	6.43 ^{ab} ± 0.52	6.65 ^{abc} ± 0.30	6.61 ^{abc} ± 0.18	7.58 ^c ± 0.13	5.74 ^a ± 0.37	6.47 ^{ab} ± 0.47	6.95 ^{bc} ± 0.14
EPR "	3.27 ^a ± 0.06	3.29 ^a ± 0.22	3.55 ^{ab} ± 0.11	3.70 ^{bc} ± 0.07	3.92 ^c ± 0.01	3.19 ^a ± 0.12	3.31 ^a ± 0.15	3.50 ^{ab} ± 0.05
EGR "	2.69 ^a ± 0.04	3.00 ^{ab} ± 0.31	3.07 ^{ab} ± 0.25	2.82 ^a ± 0.10	3.56 ^b ± 0.06	2.48 ^a ± 0.27	2.55 ^a ± 0.14	3.44 ^b ± 0.08

EBI/Incr. peso (MJ/Kg)	19.49 ^{ab}	18.53 ^a	19.09 ^{ab}	21.41 ^{cd}	21.86 ^{cd}	22.26 ^d	19.69 ^b	21.04 ^c
	± 0.12	± 0.48	± 0.08	± 0.09	± 0.40	± 0.61	± 0.24	± 0.21
EDI/Incr. peso "	14.49 ^b	14.42 ^{ab}	14.78 ^b	14.72 ^b	13.72 ^a	16.33 ^c	14.88 ^b	16.18 ^c
	± 0.09	± 0.37	± 0.06	± 0.06	± 0.25	± 0.45	± 0.18	± 0.16
EMI/Incr. peso "	13.80 ^b	13.80 ^b	14.14 ^b	14.05 ^b	12.91 ^a	15.44 ^c	14.19 ^b	15.39 ^c
	± 0.08	± 0.34	± 0.05	± 0.06	± 0.24	± 0.41	± 0.16	± 0.14
EMI (% EBI)	70.79 ^d	74.48 ^g	74.12 ^g	65.67 ^b	59.06 ^a	69.36 ^c	72.11 ^e	73.14 ^f
	± 0.20	± 0.41	± 0.26	± 0.31	± 0.59	± 0.32	± 0.12	± 0.28
EMI (% EDI)	95.23 ^d	95.72 ^f	95.71 ^f	95.51 ^e	94.14 ^a	94.50 ^b	95.42 ^{de}	95.11 ^c
	± 0.04	± 0.05	± 0.03	± 0.04	± 0.03	± 0.04	± 0.05	± 0.03
ER (% EBI)	39.60 ^{bc}	49.56 ^e	44.96 ^d	38.69 ^b	39.99 ^{bc}	34.04 ^a	43.80 ^{cd}	39.97 ^{bc}
	± 1.30	± 2.14	± 1.42	± 0.63	± 0.77	± 1.92	± 2.04	± 0.72
ER (% EDI)	53.27 ^b	63.69 ^c	58.06 ^{bc}	56.27 ^b	63.75 ^c	46.38 ^a	57.95 ^{bc}	51.98 ^{ab}
	± 1.75	± 2.76	± 1.83	± 0.91	± 1.23	± 2.62	± 2.69	± 0.94
ER (% EMI)	55.94 ^b	66.53 ^{cd}	60.66 ^{bc}	58.92 ^b	67.71 ^d	49.07 ^a	60.73 ^{bc}	54.65 ^{ab}
	± 1.79	± 2.79	± 1.88	± 0.94	± 1.29	± 2.72	± 2.76	± 0.97

EB (I): energía bruta (ingerida), ED (I): energía digestible (ingerida), EM (I): energía metabolizable (ingerida), ER: energía retenida, EPR: energía retenida como proteína, EGR: energía retenida como grasa. Kg pez: peso medio lote.

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Para el CDA Energía $n=5$ (cinco muestras de heces por dieta), en el resto de los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

La energía digestible, expresada en función del CDA de la energía o en MJ/Kg dieta, presentó diferencias cuando se compararon los valores obtenidos para las distintas dietas. Así, la ED de la dieta con girasol fue la única semejante a la de la dieta control. La menor energía digestible (MJ/Kg dieta y CDA E) la presentó la dieta con altramuz, seguida por la que contenía algodón. El valor de energía digestible de las dos dietas con caseína (CA100, CA40) fue superior al del resto de las dietas. Por último, las dietas con soja y gluten de maíz presentaron una ED (MJ/Kg dieta y CDA E) semejante a la de la dieta CA40 y superior a la control.

Al existir diferencias en la energía digestible de las dietas, las diferencias en la cantidad de energía digestible ingerida por Kg de pez entre las distintas dietas se modificó con respecto a aquellas existentes en los valores de energía bruta ingerida por unidad de peso del animal. Así, los valores de ED ingerida de las distintas dietas (MJ/Kg pez) tendieron a igualarse, sólo las dietas con girasol y con soja presentaron unos valores superiores al de la dieta control; a su vez existieron diferencias entre ambas a favor de la dieta con soja. Por el contrario, la dieta con caseína (CA100) presentó un nivel de ED ingerida (MJ/Kg pez) inferior al de la dieta control.

Las diferencias en la energía metabolizable ingerida (MJ/Kg pez) fueron semejantes a los existentes para la ED ingerida.

La cantidad de energía retenida por Kg de pez fue mayor en los animales alimentados con la dieta formulada con altramuz, seguida por la que contenía soja. La retención de energía por Kg de pez, en los animales que ingirieron el resto de las dietas, fue semejante.

La energía retenida en forma de proteína fue superior en los animales alimentados con las dietas formuladas con altramuz, seguidos por los que ingirieron la dieta con algodón. La retención proteica proporcionada por el resto de las dietas, incluida la control, fue semejante.

Por lo que respecta a la retención de energía en forma de grasa, ésta fue mayor

en las dietas con altramuz y soja, existiendo diferencias cuando se comparaban con el resto, excepto para las dietas formuladas con caseína.

Cuando calculamos la cantidad de energía dietaria, expresada en MJ, necesaria para producir 1 Kg de animal, encontramos que las diferencias entre las distintas dietas se modificaron dependiendo de que consideráramos la energía bruta, la digestible o la metabolizable dietaria. Así, la cantidad de energía bruta ingerida (MJ) necesaria para promover un incremento de peso en el animal de 1 Kg, fue semejante para las dietas C y con caseína (CA100, CA40). En el resto de las dietas, el rendimiento de su energía bruta para promover el mismo incremento de peso fue inferior; concretamente, las formuladas con girasol, altramuz y algodón fueron las que motivaron el peor rendimiento. Por último, las dietas formuladas con gluten de maíz y soja presentaron un rendimiento intermedio con respecto a las demás.

El mayor rendimiento de la ED, para producir un aumento de peso de 1 Kg, lo presentaron las dietas formuladas con girasol y soja, y el menor la dieta con altramuz.

Las mismas diferencias que las existentes en la EDI/incremento de peso, se encontraron para la EMI/incremento de peso.

Cuando calculamos el porcentaje que, de la energía bruta ingerida de la dieta, representaba la energía teóricamente disponible a nivel metabólico por el animal ($EMI\%EBI$), encontramos que las dietas formuladas con caseína, soja y gluten de maíz presentaban los mayores valores. Por otra parte, la dieta con girasol y, sobre todo, con altramuz, fueron las que contenían menor cantidad de EM con respecto a la energía bruta ingerida de la dieta.

Cuando establecimos el porcentaje que, de la energía digestible ingerida de la dieta, representaba la EM, las diferencias entre las distintas dietas desaparecieron.

Los resultados obtenidos, al expresar la energía retenida como porcentaje de la energía bruta ingerida, mostraron que las dietas con caseína y gluten de maíz fueron las

que mayor retención de energía promovieron en los animales, siendo la formulada con girasol la que proporcionó el menor valor.

Por otra parte, la cantidad de energía retenida en porcentaje de la ED ingerida, fue mayor en los animales alimentados con las dietas con caseína y con altramuz, presentando los menores valores los alimentados con la dieta formulada con girasol.

Por último, al expresar la cantidad de energía retenida en función de la metabolizable ingerida, los resultados mostraron que era la dieta que contenía harina de altramuz la que mayor metabolicidad de la energía presentaba, seguida por las dietas con caseína y con gluten de maíz. La dieta formulada con girasol, por el contrario, presentó el menor índice.

En la Tabla 4.27 se expresan las pérdidas energéticas presentadas por los animales alimentados con las distintas dietas experimentales.

La energía liberada en forma de excreción fecal (EF) fue significativamente mayor en los animales alimentados con la dieta ALT, seguidos por los que ingirieron las dietas A y G. Para los animales alimentados con el resto de las dietas experimentales no existieron diferencias en la excreción de energía de procedencia fecal.

Las pérdidas de energía metabólica de origen nitrogenado (EU+EZ) pusieron de manifiesto que, en los animales alimentados con la dieta G éstas fueron mayores, mientras que aquellos que ingirieron la dieta con harina de algodón presentaron la menor cantidad de energía liberada bajo esta forma. Entre estos dos últimos valores se encuentran los obtenidos para el resto de las dietas.

Cuando observamos la energía liberada en forma de calor (EC) en los animales alimentados con las distintas dietas experimentales, los resultados indican que los que ingirieron la dieta ALT fueron los que disiparon la menor cantidad de energía; por el contrario, la dieta G fue la que motivó el mayor desprendimiento de calor.

Tabla 4.27. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre el reparto de las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de la dieta.

	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
EF (MJ/Kg dieta)	5.02 ^{bcd} ± 0.09	4.79 ^{abc} ± 0.17	4.58 ^a ± 0.10	6.27 ^e ± 0.12	7.57 ^f ± 0.22	5.36 ^d ± 0.13	5.06 ^{cd} ± 0.05	4.64 ^{ab} ± 0.11
EU+EZ "	0.69 ^{bc} ± 0.01	0.72 ^{cd} ± 0.02	0.67 ^b ± 0.01	0.62 ^a ± 0.01	0.74 ^{de} ± 0.01	0.81 ^f ± 0.02	0.72 ^{cd} ± 0.02	0.76 ^c ± 0.01
EC "	6.28 ^{bc} ± 0.38	5.48 ^b ± 0.45	5.85 ^{bc} ± 0.28	5.47 ^b ± 0.12	3.87 ^a ± 0.15	7.18 ^d ± 0.37	6.43 ^{cd} ± 0.20	6.62 ^{cd} ± 0.06
EF (% Energía Bruta)	25.66 ^{bc} ± 0.45	22.80 ^a ± 0.91	22.55 ^a ± 0.50	31.25 ^d ± 0.58	37.25 ^e ± 1.13	26.61 ^c ± 0.63	24.42 ^{ab} ± 0.24	23.11 ^a ± 0.56
EU+EZ "	3.52 ^a ± 0.05	3.31 ^a ± 0.11	3.32 ^a ± 0.06	3.28 ^a ± 0.21	3.54 ^a ± 0.12	4.02 ^b ± 0.08	3.41 ^a ± 0.09	3.94 ^b ± 0.12
EC "	32.13 ^{de} ± 1.94	25.41 ^b ± 2.08	28.81 ^{bcd} ± 1.36	27.28 ^{bc} ± 0.61	19.35 ^a ± 0.75	35.66 ^e ± 1.86	31.08 ^{cd} ± 0.98	32.95 ^{de} ± 0.32

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada lote experimental).

En la Tabla 4.28 se expresa el contenido en macronutrientes digestibles de cada una de las dietas experimentales y el nivel de ingesta de los macronutrientes, brutos y digestibles, que presentaron los animales alimentados con cada una de ellas. Las distintas relaciones P/E también quedan reflejadas en dicha Tabla.

Para los valores de proteína, grasa e hidratos de carbono digestibles (g/100 g dieta) de cada una de las dietas experimentales, cabe hacer el mismo comentario que el que ya se hizo en este apartado (pp. 138) para los valores de CDA de estos macronutrientes.

Del mismo modo, las diferencias en la cantidad de macronutrientes ingerida en forma bruta, son semejantes a aquellas comentadas para la ingesta de alimento (pg. 135).

Por lo que respecta a la cantidad de proteína, grasa e hidratos de carbono digestibles ingeridos (g/100 g pez), los resultados se derivan, lógicamente, de los obtenidos para la ingesta bruta y la digestibilidad de los citados macronutrientes. Así, la PDI presentó los máximos valores en los animales alimentados con la dieta ALT y los mínimos para los que ingirieron la dieta CA100. La ingesta de grasa digestible (GDI) fue mayor en los animales alimentados con las dietas ALT y S y menor en los que ingirieron la dieta CA100. Por último, los animales alimentados con la dieta ALT presentaron los mínimos valores para la cantidad de hidratos de carbono digestibles ingeridos (HCDI).

La relación PD/ED (g/MJ) existente en las diferentes dietas experimentales, fue semejante en todas ellas, excepto en la dieta ALT que mostró valores significativamente superiores.

Por lo que respecta a la relación proteína retenida/energía metabolizable (PR/EM, g/MJ), las dietas formuladas con harina de girasol y soja promovieron los menores valores; el resto de las dietas presentaron valores similares para esta relación.

Tabla 4.28. Influencia de la inclusión de distintas materias primas sobre la utilización digestiva de los macronutrientes y las relaciones P/E de las dietas.

	C	CA100	CA40	A	ALT	G	GL	S
PD (g/100 g dieta)	35.06 ^b ± 0.33	41.29 ^f ± 0.08	37.68 ^d ± 0.20	34.06 ^a ± 0.20	36.05 ^c ± 0.23	36.52 ^c ± 0.20	37.81 ^d ± 0.21	36.28 ^c ± 0.18
GD "	9.55 ^c ± 0.03	10.44 ^f ± 0.12	8.98 ^a ± 0.03	10.00 ^d ± 0.03	9.22 ^b ± 0.07	10.13 ^{de} ± 0.09	10.36 ^f ± 0.05	10.28 ^{ef} ± 0.06
HCD "	17.03 ^e ± 0.09	16.63 ^e ± 0.21	18.24 ^f ± 0.26	12.41 ^{bc} ± 0.40	3.55 ^a ± 0.53	11.57 ^b ± 0.22	15.55 ^d ± 0.22	13.21 ^c ± 0.29
PBI (g/100 g pez)	32.77 ^c ± 0.38	25.45 ^a ± 0.41	31.07 ^b ± 0.26	35.72 ^e ± 0.16	40.10 ^g ± 0.08	35.00 ^d ± 0.23	30.29 ^b ± 0.29	36.45 ^f ± 0.06
PDI "	27.41 ^b ± 0.34	24.74 ^a ± 0.40	27.44 ^b ± 0.24	29.00 ^e ± 0.16	34.16 ^f ± 0.14	30.54 ^d ± 0.22	26.94 ^b ± 0.27	31.43 ^e ± 0.10
GBI "	8.48 ^d ± 0.09	6.69 ^a ± 0.11	6.99 ^b ± 0.04	9.12 ^e ± 0.04	9.84 ^g ± 0.02	9.21 ^e ± 0.06	8.08 ^c ± 0.08	9.58 ^f ± 0.02
GDI "	7.47 ^c ± 0.08	6.26 ^a ± 0.11	6.54 ^b ± 0.04	8.51 ^d ± 0.04	8.73 ^e ± 0.04	8.47 ^d ± 0.07	7.38 ^c ± 0.07	8.91 ^e ± 0.03
HCBI "	20.48 ^e ± 0.23	15.35 ^a ± 0.25	19.70 ^d ± 0.16	19.82 ^d ± 0.09	21.31 ^f ± 0.04	17.48 ^b ± 0.11	18.29 ^c ± 0.18	18.56 ^c ± 0.03
HCDI "	13.31 ^e ± 0.16	9.97 ^b ± 0.17	13.28 ^e ± 0.14	10.57 ^c ± 0.19	3.36 ^a ± 0.27	9.68 ^b ± 0.12	11.07 ^d ± 0.14	11.44 ^d ± 0.13
PD/ED (g/MJ)	24.13 ^a ± 0.65	24.59 ^a ± 1.04	23.97 ^a ± 0.39	24.70 ^a ± 0.29	28.71 ^b ± 0.15	24.71 ^a ± 0.43	24.16 ^a ± 0.61	23.49 ^a ± 0.09
PR/EM "	12.92 ^{ab} ± 0.18	14.61 ^c ± 0.96	13.85 ^{bc} ± 0.42	14.08 ^c ± 0.28	14.96 ^c ± 0.03	11.67 ^a ± 0.45	14.08 ^{bc} ± 0.28	11.75 ^a ± 0.18

P: proteína, G: grasa, HC: hidratos de carbono, E: energía. B(I): bruto (ingerido), D(I): digestible (ingerido), R: retenido, M: metabolizable.

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada lote de animales en cada dieta).

Las figuras que se exponen a continuación, corresponden a las relaciones establecidas entre distintos índices y parámetros, expresados previamente dentro de este apartado, y que se comentarán en el apartado de Discusión correspondiente a este ensayo.

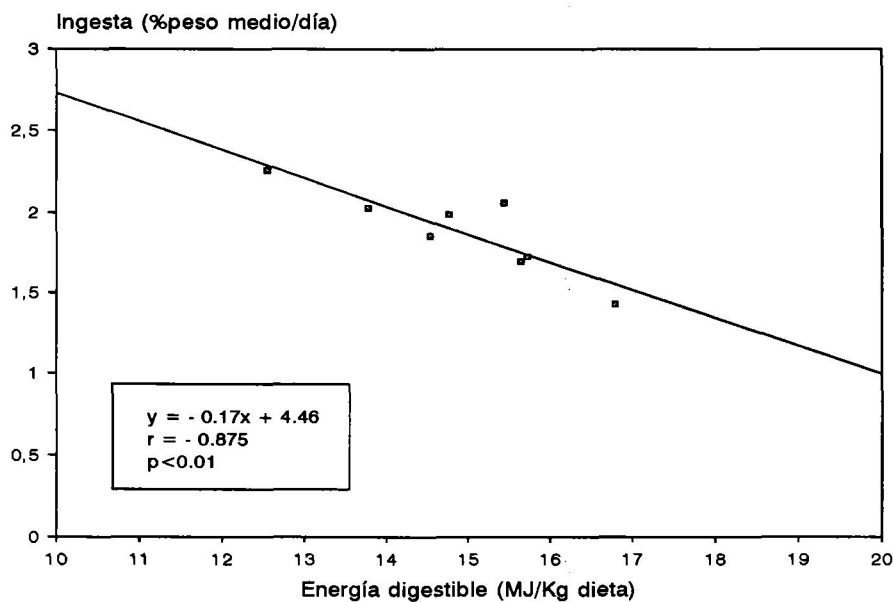


Fig. 4.3. Relación entre la energía digestible de las dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S) y la ingesta de alimento.

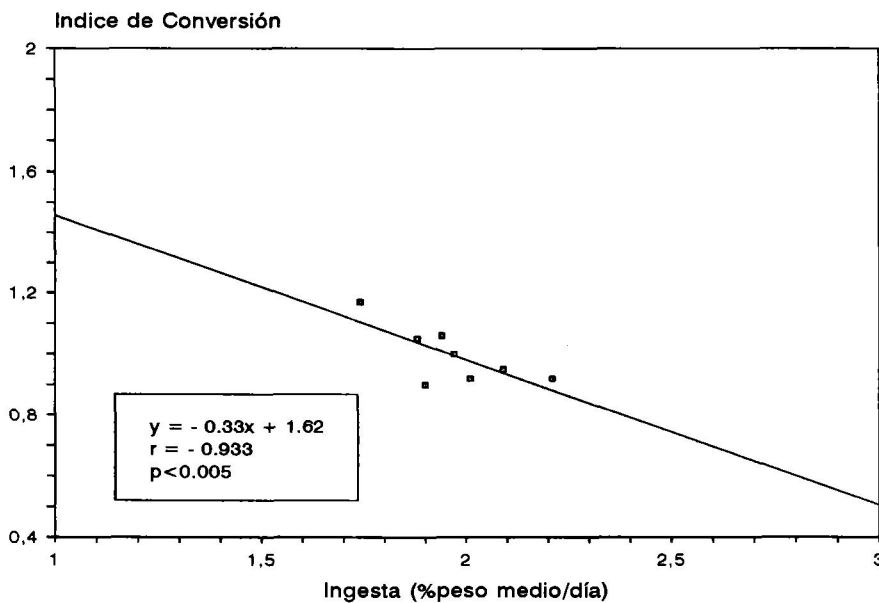


Fig. 4.4. Relación entre la ingesta de las dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S) y el Índice de Conversión del alimento.

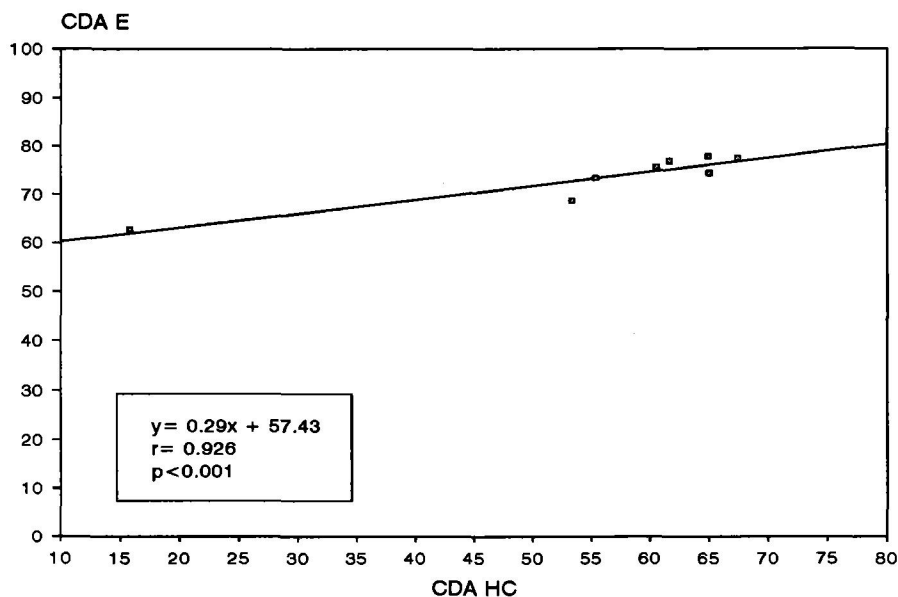


Fig. 4.5. Relación entre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la energía y de los hidratos de carbono de las dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S).

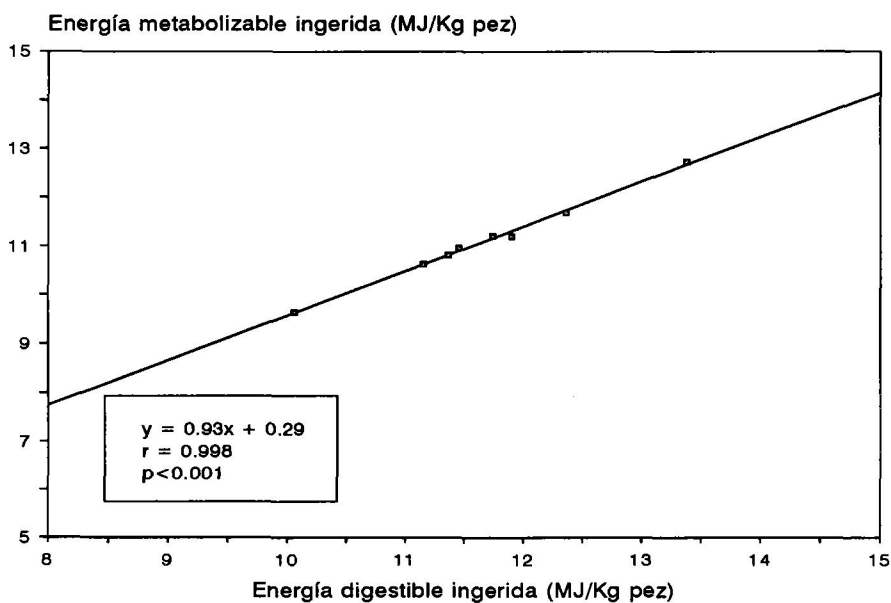


Fig. 4.6. Relación entre la ingesta de energía digestible y de energía metabolizable de las dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S).

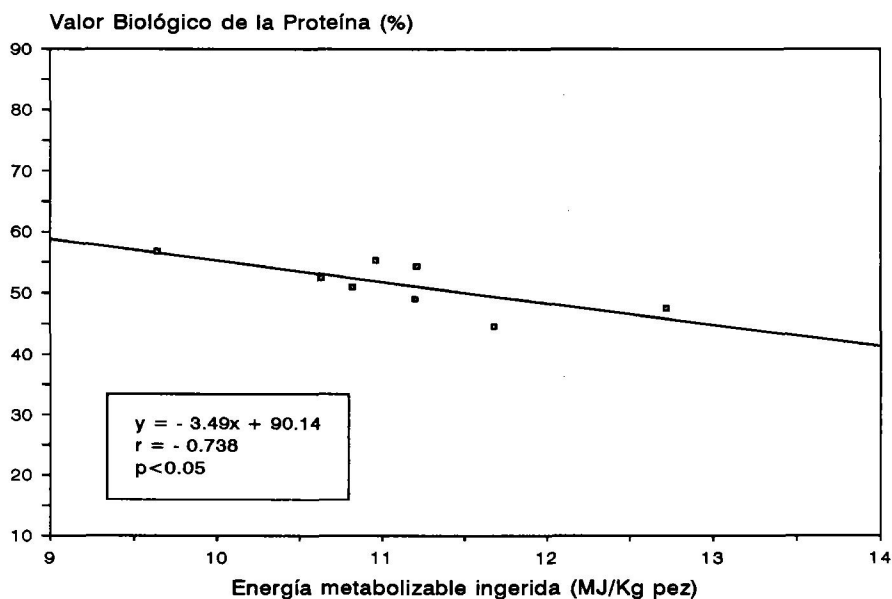


Fig. 4.7. Relación entre la energía digestible ingerida y el Valor Biológico de la proteína de las dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S).

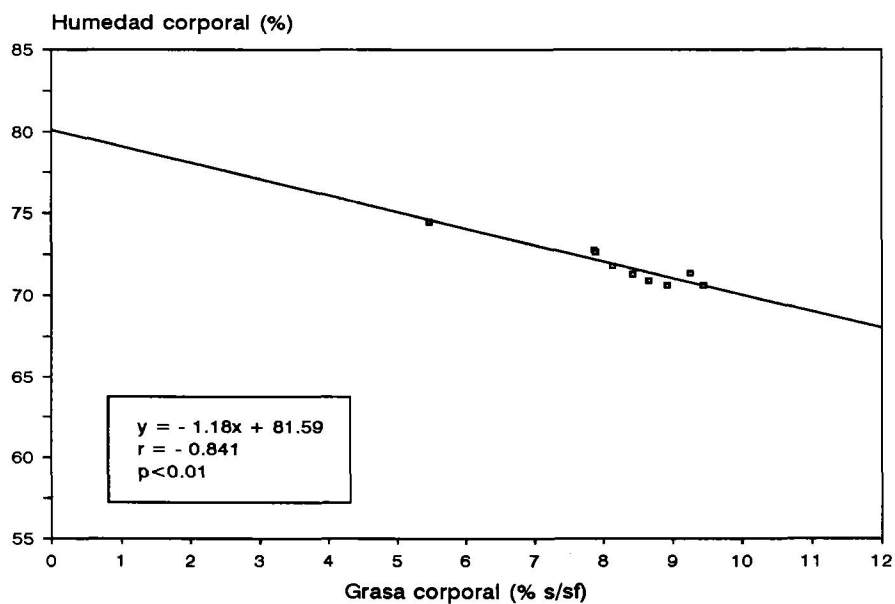


Fig. 4.8. Relación entre el contenido graso y la humedad corporal de los animales alimentados con dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S).

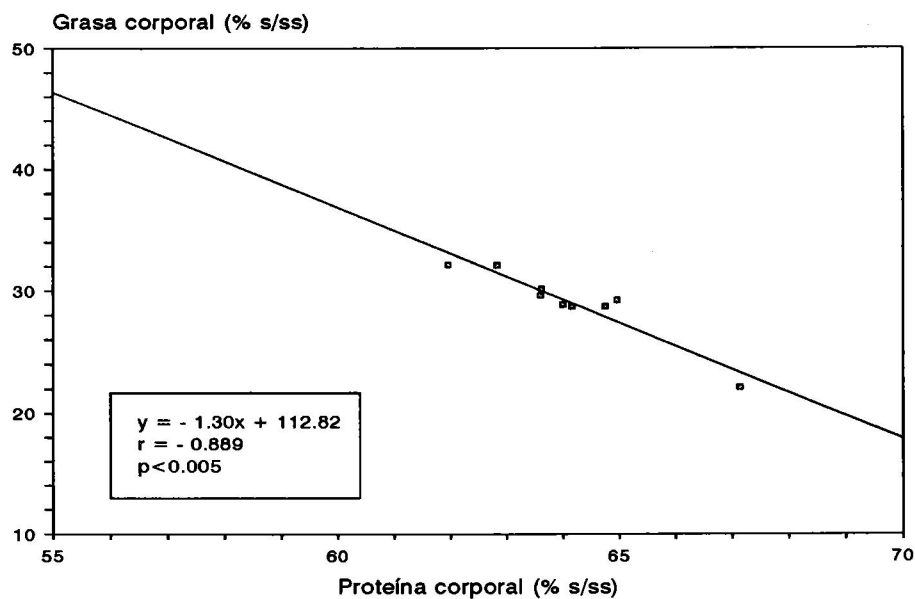


Fig. 4.9. Relación entre el contenido proteico y graso corporal de los animales alimentados con dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S).

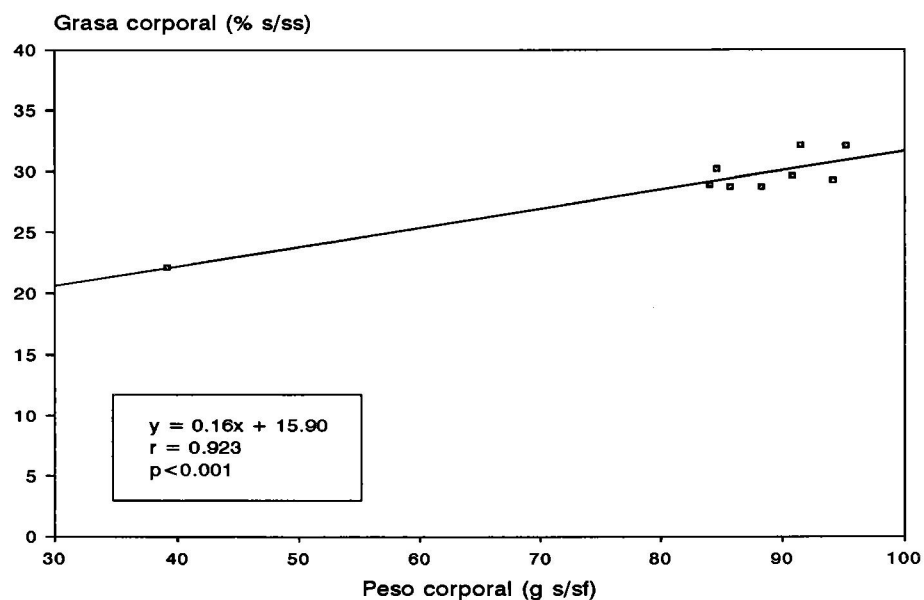


Fig. 4.10. Relación entre el peso de los animales alimentados con dietas formuladas con diferentes materias primas (C, CA100, CA40, A, ALT, G, GL, S) y el contenido graso de los mismos.

4.4. PROCEDIMIENTOS ENCAMINADOS A LA MEJORA DE LA UTILIZACION NUTRITIVO-ENEGETICA DE LAS DIETAS

4.4.1. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN COMPLEJO MULTIENZIMATICO COMERCIAL (KEMZYME) SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVA DE LA DIETA

La adición del preparado multienzimático, a tres dietas formuladas con harina de pescado y algodón, no manifestó cambios en cuanto a crecimiento, ingesta e Índice de Conversión del alimento (Tabla 4.29), ya que no existieron diferencias cuando se compararon con los resultados obtenidos con la dieta formulada con harina de algodón, pero sin adición del preparado. Al comparar los resultados con los de la dieta control, encontramos que los animales alimentados con las dietas que incluían algodón ingirieron éstas en una mayor proporción, mientras que su crecimiento fue similar a los alimentados con la dieta control; en consecuencia, los IC de las dietas con algodón fueron inferiores.

Tabla 4.29. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento.

	N° peces	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	Ingesta (%peso.día ⁻¹)	Incr. Peso (% pmi)	TCI	IC
C ₂	53	38.47 ^a ± 0.19	62.97 ^a ± 1.90	2.48 ^a ± 0.04	63.69 ^a ± 4.02	2.33 ^a ± 0.13	0.93 ^b ± 0.02
A ₂	47	38.43 ^a ± 0.77	63.36 ^a ± 0.59	2.72 ^b ± 0.11	65.05 ^a ± 4.08	2.38 ^a ± 0.11	0.86 ^a ± 0.01
AK ₁	51	39.14 ^a ± 0.51	64.11 ^a ± 1.44	2.66 ^b ± 0.16	63.94 ^a ± 5.46	2.35 ^a ± 0.16	0.86 ^a ± 0.01
AK ₂	51	38.53 ^a ± 0.26	63.65 ^a ± 0.62	2.66 ^b ± 0.04	65.97 ^a ± 1.90	2.39 ^a ± 0.05	0.88 ^a ± 0.01
AK ₃	56	38.97 ^a ± 0.33	64.27 ^a ± 1.20	2.72 ^b ± 0.10	64.99 ^a ± 4.29	2.38 ^a ± 0.13	0.86 ^a ± 0.03

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (tres lotes de animales por dieta).

Tabla 4.30. Composición en macronutrientes y contenido en Cr_2O_3 de las heces (% s/ss).

	C_2	A_2	AK_1	AK_2	AK_3
Proteína	22.34 ± 0.08	17.88 ± 0.03	17.03 ± 0.07	17.20 ± 0.09	17.27 ± 0.06
Grasa	5.48 ± 0.11	2.32 ± 0.04	2.52 ± 0.07	2.69 ± 0.03	2.32 ± 0.05
Cenizas	28.09 ± 0.18	30.38 ± 0.25	30.35 ± 0.24	31.37 ± 0.19	30.81 ± 0.11
Fibra bruta	20.26 ± 0.20	25.26 ± 0.31	25.84 ± 0.19	25.98 ± 0.25	26.59 ± 0.27
H. Carbono	23.83 ± 0.33	24.16 ± 0.24	24.26 ± 0.27	22.78 ± 0.47	23.01 ± 0.24
Energía (MJ/Kg)	14.60 ± 0.17	14.35 ± 0.29	14.35 ± 0.12	14.54 ± 0.07	13.89 ± 0.11
Cr_2O_3	1.51 ± 0.01	0.85 ± 0.02	0.84 ± 0.02	0.86 ± 0.03	0.87 ± 0.02

En todos los casos $n=4$ (cuatro muestras de heces procedentes de cada dieta).

En la Tabla 4.30 se expresan los resultados del análisis de macronutrientes y energía de las heces procedentes de las distintas dietas experimentales.

Los resultados obtenidos para el CDA de los macronutrientes y la energía (Tabla 4.31) reflejan que, tampoco este nivel, el complejo multienzimático ejerció efecto alguno, para los distintos niveles en que se adicionó.

Como se puede observar, salvo en el caso de la grasa, el resto de macronutrientes, así como la materia seca y la energía, de las dietas con KEMZYME, se digirieron en menor proporción que los de la dieta control.

Tabla 4.31. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre el CDA de los macronutrientes y la dieta.

	Coeficientes de Digestibilidad Aparente							
	P	PF	G	MELN	HC	MO	E	MS
C ₂	89.53 ^b ± 0.07	89.53 ^b ± 0.07	90.82 ^a ± 0.13	70.77 ^b ± 0.53	81.24 ^b ± 0.71	83.00 ^b ± 0.13	85.26 ^b ± 0.18	80.17 ^b ± 0.11
A ₂	84.65 ^a ± 0.47	77.33 ^a ± 1.17	92.92 ^b ± 0.21	46.49 ^a ± 1.71	60.98 ^a ± 1.36	71.19 ^a ± 0.90	74.45 ^a ± 0.47	64.29 ^a ± 1.06
AK ₁	85.35 ^a ± 0.28	79.07 ^a ± 0.96	92.44 ^b ± 0.36	45.52 ^a ± 1.34	60.30 ^a ± 1.18	70.96 ^a ± 0.68	74.27 ^a ± 0.51	64.09 ^a ± 0.74
AK ₂	85.36 ^a ± 0.39	79.11 ^a ± 0.96	92.11 ^b ± 0.24	47.21 ^a ± 1.20	62.00 ^a ± 1.17	71.46 ^a ± 0.68	74.05 ^a ± 0.61	64.29 ^a ± 0.90
AK ₃	84.03 ^a ± 0.32	75.79 ^a ± 1.88	92.74 ^b ± 0.15	41.70 ^a ± 1.08	58.50 ^a ± 1.25	68.76 ^a ± 0.58	73.09 ^a ± 0.47	61.24 ^a ± 0.72

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=4$ (cuatro muestras de heces procedentes de cada dieta).

Asimismo, tampoco se encontraron diferencias en los resultados de composición corporal (Tabla 4.32), entre los animales alimentados con las dietas que incluían el complejo multienzimático y los alimentados con la dieta A₂ y control.

En cuanto a los índices que nos informan acerca de la utilización de la proteína de la dieta, reflejados en la Tabla 4.33, los resultados de Coeficiente de Eficacia en Crecimiento fueron similares para todas las dietas, no manifestándose, tampoco en este índice, ningún efecto de la adición del preparado comercial.

Tabla 4.32. Influencia de la adición a la dieta de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la composición corporal de los animales (% s/ss).

	Proteína	Grasa	Cenizas	Humedad
Inicial	71.19 ± 2.64	17.70 ± 3.08	14.04 ± 0.78	76.55 ± 0.97

C ₂	61.41 ^a ± 0.98	28.71 ^a ± 0.99	10.44 ^a ± 0.17	74.02 ^a ± 0.38
A ₂	61.78 ^a ± 0.72	28.40 ^a ± 0.79	10.17 ^a ± 0.18	74.13 ^a ± 0.23
AK ₁	60.76 ^a ± 0.92	29.64 ^a ± 1.05	10.01 ^a ± 0.23	73.41 ^a ± 0.43
AK ₂	61.93 ^a ± 0.69	29.60 ^a ± 1.05	9.20 ^a ± 0.97	74.08 ^a ± 0.29
AK ₃	62.67 ^a ± 1.23	29.54 ^a ± 1.01	10.22 ^a ± 0.29	73.93 ^a ± 0.48

Los valores, en la misma columna, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En el punto inicial n=20, en el punto final n=15 (n: número de animales analizados).

Por lo que respecta al VPP, encontramos que todas las dietas promovieron una retención proteica similar al ser ingeridas, no existiendo diferencias significativas entre ellas.

En cuanto al Valor Biológico de la proteína (VBA), se obtuvieron resultados superiores con las dietas que incluían algodón, al compararlas con la control. También se puede observar que no existieron diferencias significativas entre el VBA de la proteína de las dietas que contenían el complejo multienzimático y la dieta con algodón que no lo incluía.

Tabla 4.33. Influencia de la adición de un complejo multienzimático comercial (KEMZYME) sobre la utilización de la proteína dietaria.

	Ingesta (g s/ss)		Incr. peso (g s/sf)	N Corporal (g s/sf)		CEC	VPP (%)	VBA (%)
	Proteína	Nitrógeno		Inicial	Final			
C ₂	589.10	94.26	1298.32	54.45	85.16	2.20 ^b ± 0.05	32.58 ^a ± 0.88	36.39 ^a ± 0.25
A ₂	558.37	89.34	1162.00	47.53	75.48	2.08 ^a ± 0.01	31.27 ^a ± 0.62	37.01 ^b ± 0.23
AK ₁	616.96	98.71	1279.67	53.26	85.48	2.07 ^a ± 0.03	32.62 ^a ± 0.18	38.22 ^b ± 0.21
AK ₂	610.58	97.68	1281.33	52.10	83.36	2.10 ^a ± 0.03	32.00 ^a ± 0.36	37.49 ^b ± 0.43
AK ₃	692.52	110.83	1423.33	57.76	94.01	2.05 ^a ± 0.02	32.72 ^a ± 2.87	38.94 ^b ± 3.43

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada índice en los tres lotes experimentales para cada dieta).

4.4.2. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN PREPARADO COMERCIAL ("NUTRIENTES DE AUTOMULTIPLICACION TIPO B") SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVO-METABOLICA DE LA DIETA

Los resultados obtenidos en cuanto a crecimiento, ingesta e índice de conversión (Tabla 4.34) indican que, en nuestras condiciones, el preparado comercial no ejerció ningún efecto significativo sobre los animales.

Tabla 4.34. Influencia de la adición de nutrientes de automultiplicación sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento.

	C ₃	C ₃ B
Nº peces	28	31
Peso medio inicial (g)	34.82 ^a ± 0.57	36.48 ^a ± 1.82
Peso medio final (g)	99.90 ^a ± 1.15	104.78 ^a ± 2.18
Ingesta (% peso medio.día ⁻¹)	1.63 ^a ± 0.03	1.55 ^a ± 0.03
Incremento de peso (%pmi)	187.09 ^a ± 5.77	187.78 ^a ± 9.20
TCI	1.82 ^a ± 0.03	1.82 ^a ± 0.05
IC	1.03 ^a ± 0.03	1.07 ^a ± 0.01

Los valores, en la misma fila, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (tres lotes de animales por dieta).

Cuando calculamos el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la materia seca de la dieta experimental, y comparamos con la dieta control, encontramos que, tampoco a este nivel, el preparado comercial adicionado a la dieta había ejercido efecto alguno (Tabla 4.36).

Tabla 4.35. Composición en macronutrientes y contenido en Cr₂O₃ de las heces (% s/ss).

	C ₃	C ₃ B
Proteína	18.88 ± 0.13	19.05 ± 0.12
Grasa	3.18 ± 0.13	3.36 ± 0.10
Cenizas	34.32 ± 0.28	34.57 ± 0.37
Fibra bruta	24.74 ± 0.22	23.42 ± 0.19
H. Carbono	18.88 ± 0.44	19.60 ± 0.46
Energía (MJ/Kg)	14.28 ± 0.10	14.79 ± 0.05
Cr ₂ O ₃	1.41 ± 0.02	1.43 ± 0.02

En todos los casos n=3 (tres muestras de heces procedentes de cada dieta).

Tabla 4.36. Influencia de la adición de nutrientes de automultiplicación sobre los Coeficientes de Digestibilidad Aparente.

	C ₃	C ₃ B
CDA P	88.80 ^a ± 0.15	88.52 ^a ± 0.14
CDA G	92.84 ^a ± 0.33	92.49 ^a ± 0.20
CDA MELN	67.15 ^a ± 0.25	67.51 ^a ± 0.22
CDA HC	81.64 ^a ± 0.43	81.01 ^a ± 0.21
CDA MO	81.00 ^a ± 0.15	80.93 ^a ± 0.15
CDA MS	74.96 ^a ± 0.24	74.82 ^a ± 0.32

Los valores, en la misma fila, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (tres muestras de heces procedentes de cada dieta).

Tampoco se observó ningún efecto en cuanto a la composición corporal de los animales (Tabla 4.37) ni sobre la utilización de la proteína dietaria (Tabla 4.38).

Tabla 4.37. Influencia de la inclusión en la dieta de nutrientes de automultiplicación sobre la composición corporal de los animales (% s/ss).

	Inicial	C ₃	C ₃ B
Proteína	74.49 ± 0.77	61.48 ^a ± 0.49	60.77 ^a ± 0.75
Grasa	14.91 ± 1.09	36.86 ^a ± 0.57	37.53 ^a ± 0.62
Cenizas	11.73 ± 0.39	7.88 ^a ± 0.17	7.84 ^a ± 0.20
Energía (MJ/Kg)	22.61 ± 0.09	26.99 ^a ± 0.19	27.13 ^a ± 0.19
Humedad	78.74 ± 0.34	71.52 ^a ± 0.18	71.58 ^a ± 0.20

Los valores, en la misma fila, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En el punto inicial n=3, en el punto final n=9 (muestras en que se dividió la totalidad de animales del punto inicial (3) y final (9)).

Tabla 4.38. Influencia de la inclusión de nutrientes de automultiplicación sobre la utilización de la proteína de la dieta.

	Ingesta (g s/ss)		Incr. peso (g s/sf)	N Corporal (g s/sf)		CEC	VPP (%)	VBA (%)
	Proteína	Nitrógeno		Inicial	Final			
C ₃	756.37	121.02	1853.33	24.88	79.36	2.43 ^a ± 0.08	44.61 ^a ± 1.38	50.24 ^a ± 1.55
C ₃ B	820.28	131.24	2117.33	28.66	89.72	2.58 ^a ± 0.04	46.45 ^a ± 1.85	51.83 ^a ± 2.07

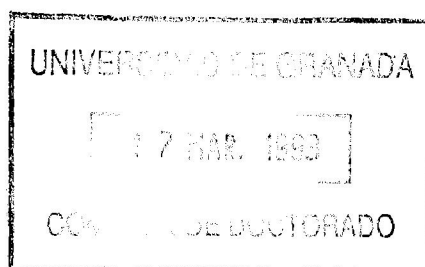
Los valores, en la misma columna, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

Los resultados que reflejan el destino de la energía dietaria se expresan en la Tabla 4.39.

Tabla 4.39. Influencia, sobre el destino de la energía dietaria, de la inclusión de nutrientes de automultiplicación.

	C ₃	C ₃ B
CDA Energía	82.56 ^a ± 0.34	82.12 ^a ± 0.16
EB (MJ/Kg dieta)	20.51	20.48
ED "	16.93 ^a ± 0.12	17.02 ^a ± 0.04
EM "	16.19 ^a ± 0.20	16.30 ^a ± 0.03
ER "	9.45 ^a ± 0.29	9.97 ^a ± 0.36
EBI (MJ/Kg pez)	19.36 ^a ± 0.33	18.38 ^a ± 0.60
EDI "	15.98 ^a ± 0.27	15.27 ^a ± 0.33
EMI "	15.28 ^a ± 0.24	14.63 ^a ± 0.30
ER "	8.91 ^a ± 0.13	8.95 ^a ± 0.35
EPR "	4.16 ^a ± 0.06	4.07 ^a ± 0.13
EGR "	4.76 ^a ± 0.09	4.87 ^a ± 0.23
EBI/Incr. peso (MJ/Kg)	20.06 ^a ± 0.66	19.09 ^a ± 0.77
EDI/Incr. peso "	16.56 ^a ± 0.54	15.87 ^a ± 0.65
EMI/Incr. peso "	15.83 ^a ± 0.50	15.20 ^a ± 0.59
EM (% EBI)	78.92 ^a ± 0.11	79.60 ^a ± 0.15
EM (% EDI)	95.59 ^a ± 0.14	95.76 ^a ± 0.17
ER (% EBI)	46.09 ^a ± 1.40	48.69 ^a ± 1.76
ER (% EDI)	55.83 ^a ± 1.70	58.58 ^a ± 2.04
ER (% EMI)	58.39 ^a ± 1.70	61.17 ^a ± 2.10

Los valores, en la misma fila, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).



Como se puede observar, tampoco se evidenció ningún efecto significativo a estos niveles.

Los parámetros hematológicos analizados al final del experimento (Tabla 4.40) reflejaron unos valores muy similares para los animales alimentados con las dos dietas experimentales; estos valores, a su vez, no presentaron diferencias significativas al compararlos con los que presentaban los animales al inicio del periodo experimental.

En cuanto a la Relación Hepatosomática, tampoco se encontraron diferencias entre los valores obtenidos en los animales alimentados con las dietas C₃B y control, si bien éstos fueron superiores a los presentados por los animales del punto inicial.

Tabla 4.40. Influencia de la inclusión de un preparado comecial (nutrientes de automultiplicación, tipo B) sobre el hematocrito, la hemoglobina y la Relación Hepatosomática de los animales.

	Hematocrito	Hemoglobina	RHS
Inicial	40.53 ^a ± 1.06	5.79 ^a ± 0.22	1.28 ^a ± 0.11

C ₃	41.42 ^a ± 1.36	5.90 ^a ± 0.19	1.76 ^b ± 0.09
C ₃ B	38.35 ^a ± 1.78	5.75 ^a ± 0.37	1.72 ^b ± 0.16

Los valores, en la misma columna, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=20 (número de animales en que se realizaron las determinaciones).

4.4.3. INFLUENCIA QUE, SOBRE LA UTILIZACION DE DIETAS CON DIFERENTES MATERIAS PRIMAS, EJERCE LA FORMULACION EN ENERGIA DIGESTIBLE Y LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS Y/O MEZCLA DE LAS MISMAS

Como se ha indicado en el apartado 3.3 de esta Tesis Doctoral, las dietas correspondientes a este bloque de ensayos se formularon isocalóricas en energía digestible y con semejantes proporciones en la energía aportada por los diferentes macronutrientes, con la finalidad de poder obtener resultados que nos indicaran el uso que, de la energía metabolizable de la dieta, realizaba el animal.

4.4.3.1. INFLUENCIA, SOBRE LA UTILIZACION DE DIETAS CON HARINA DE GIRASOL, DE LA FORMULACION EN ENERGIA DIGESTIBLE Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS

En el ensayo se utilizaron tres dietas: una control (C_3), fabricada con harina de pescado como única fuente de proteína, y dos dietas experimentales (G_2 y G_2S) en las que el 40% de la proteína era aportada por la harina de girasol. La única diferencia entre estas dos últimas dietas fue que una de ellas se suplementó con aminoácidos libres (G_2S).

Las dietas formuladas con harina de girasol se igualaron en energía digestible a la dieta control; asimismo, la adición de L-aminoácidos se efectuó con el criterio de igualar el patrón de aminoácidos digestibles de la dieta experimental al existente en la control, con el objetivo de proporcionar a la maquinaria metabólica del animal una energía metabolizable en cantidad y calidad "teóricamente" semejante a la de la dieta control.

Los resultados de crecimiento, ingesta e Índice de Conversión (Tabla 4.41) obtenidos para las dietas experimentales, fueron muy similares entre sí y con respecto a los obtenidos para la dieta control, no existiendo diferencias significativas cuando se comparan los distintos parámetros e índices.

Tabla 4.41. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento.

	N° peces	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	Ingesta (% peso.dfa ⁻¹)	Incr. Peso (% pmi)	TCI	IC
C ₃	28	34.82 ^a ± 0.57	99.90 ^a ± 1.15	1.63 ^a ± 0.03	187.09 ^a ± 5.77	1.82 ^a ± 0.03	1.03 ^a ± 0.03
G ₂	29	37.68 ^a ± 1.93	105.01 ^a ± 3.05	1.68 ^a ± 0.03	178.69 ^a ± 9.10	1.76 ^a ± 0.05	0.96 ^a ± 0.02
G ₂ S	33	37.08 ^a ± 1.07	103.98 ^a ± 2.04	1.74 ^a ± 0.03	180.41 ^a ± 4.36	1.78 ^a ± 0.03	0.93 ^a ± 0.01

Los valores, en la misma columna, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (tres lotes de animales por dieta).

En la Tabla 4.42 se recoge la composición en macronutrientes y el contenido en Cr₂O₃ de las heces procedentes de las distintas dietas ensayadas.

Los resultados obtenidos para el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes y la materia seca de las distintas dietas se recogen en la Tabla 4.43.

Cuando comparamos los resultados de utilización digestiva de los distintos macronutrientes de las dietas experimentales con aquellos correspondientes a los de la dieta control, encontramos, en las primeras, valores superiores en cuanto al CDA de la proteína, tanto de la dieta como de la materia prima, mientras que la digestibilidad de los hidratos de carbono, la materia orgánica y la materia seca presentaron valores inferiores a los de la dieta control.

Tabla 4.42. Composición en macronutrientes y contenido en Cr₂O₃ de las heces (% s/ss).

	C ₃	G ₂	G ₂ S
Proteína	18.88 ± 0.13	13.22 ± 0.50	13.07 ± 0.12
Grasa	3.18 ± 0.13	3.43 ± 0.16	3.27 ± 0.12
Cenizas	34.32 ± 0.28	22.90 ± 0.32	24.10 ± 0.18
Fibra bruta	24.74 ± 0.22	30.87 ± 0.18	29.87 ± 0.15
H. Carbono	18.88 ± 0.44	29.58 ± 0.44	29.69 ± 0.27
Energía (MJ/Kg)	14.28 ± 0.10	15.72 ± 0.18	15.59 ± 0.10
Cr ₂ O ₃	1.41 ± 0.02	1.18 ± 0.03	1.20 ± 0.02

Tabla 4.43. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes.

	Coeficientes de Digestibilidad Aparente						
	P	PF	G	MELN	HC	MO	MS
C ₃	88.80 ^a ± 0.15	88.80 ^a ± 0.15	92.84 ^a ± 0.33	67.15 ^b ± 0.25	81.64 ^b ± 0.43	81.00 ^b ± 0.15	74.96 ^b ± 0.24
G ₂	90.78 ^b ± 0.14	93.73 ^b ± 0.98	91.82 ^a ± 0.25	55.10 ^a ± 0.36	67.88 ^a ± 0.14	75.89 ^a ± 0.37	72.45 ^a ± 0.43
G ₂ S	91.17 ^b ± 0.01	94.71 ^b ± 0.86	92.22 ^a ± 0.37	55.89 ^a ± 0.30	68.86 ^a ± 0.42	76.70 ^a ± 0.32	72.93 ^a ± 0.37

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (tres muestras de heces procedentes de cada dieta).

Los resultados obtenidos en cuanto a la composición corporal de los animales alimentados con las distintas dietas experimentales, se recogen en la Tabla 4.44. Como

se puede observar, el contenido en proteína, cenizas, energía y humedad de los animales alimentados con las dietas que incluían harina de girasol fue similar al de los animales control; sin embargo, estos últimos presentaron un mayor contenido graso.

Tabla 4.44. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la composición corporal de los animales (% s/ss, energía MJ/Kg ss).

	Proteína	Grasa	Cenizas	Energía	Humedad
Inicial	74.49 ± 0.77	14.91 ± 1.09	11.73 ± 0.39	22.61 ± 0.09	78.74 ± 0.34

C ₃	61.48 ^a ± 0.49	36.86 ^b ± 0.57	7.88 ^a ± 0.17	26.99 ^a ± 0.29	71.52 ^a ± 0.18
G ₂	62.16 ^a ± 0.39	33.57 ^a ± 0.60	7.92 ^a ± 0.20	26.53 ^a ± 0.30	72.23 ^b ± 0.24
G ₂ S	62.43 ^a ± 0.45	33.79 ^a ± 0.71	8.15 ^a ± 0.15	27.07 ^a ± 0.27	72.28 ^b ± 0.24

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En el punto inicial $n=3$, en el punto final $n=9$ (muestras en que se dividió la totalidad de animales del punto inicial (3) y final (9)).

Por lo que se refiere a los índices que nos informan acerca de la utilización de a proteína dietaria, recogidos en la Tabla 4.45, se puede observar que las dietas formuladas con harina de girasol promovieron resultados similares a los de la dieta control, no existiendo diferencias significativas cuando se comparan los índices obtenidos con las diferentes dietas.

Tabla 4.45. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de la proteína de la dieta.

	Ingesta (g s/ss)		Incr. peso (g s/sf)	N Corporal (g s/sf)		CEC	VPP (%)	VBA (%)
	Proteína	Nitrógeno		Inicial	Final			
C ₃	756.37	121.02	1853.33	24.88	79.36	2.43 ^a	44.61 ^a	50.24 ^a
G ₂	813.23	130.12	1991.00	28.16	85.74	± 0.08 2.44 ^a	± 1.38 44.15 ^a	± 1.55 48.64 ^a
G ₂ S	941.95	150.71	2203.67	31.00	94.81	± 0.07 2.34 ^a	± 1.37 42.34 ^a	± 1.07 46.44 ^a
						± 0.03	± 0.49	± 0.54

Los valores, en la misma columna, con el mismo superíndice, indican la ausencia de diferencias significativas. En todos los casos n=3 (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

Por lo que respecta al destino de la energía de las dietas (Tabla 4.46), sólo se encontraron diferencias cuando se consideraron los índices que se refieren a la energía bruta. Así, en los animales alimentados con la dieta G₂S los valores de EBI/Kg pez y EBI/Incremento de peso fueron mayores que los obtenidos para los alimentados con la dieta control. Por lo que se refiere al Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la energía, los resultados fueron inferiores para los animales alimentados con las dietas G₂ y G₂S.

La energía retenida, expresada en MJ/Kg de dieta fue menor para los animales alimentados con las dos dietas que incluían girasol.

Por último, la energía metabolizable y retenida, expresadas como porcentaje de la energía bruta, también presentaron valores inferiores en estas dos últimas dietas.

Tabla 4.46. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre el destino de la energía dietaria.

	C ₃	G ₂	G ₂ S
CDA Energía	82.56 ^b ± 0.34	79.25 ^a ± 0.05	79.82 ^a ± 0.12
EB (MJ/Kg dieta)	20.51	20.87	20.85
ED "	16.93 ^a ± 0.12	16.54 ^a ± 0.18	16.64 ^a ± 0.16
EM "	16.19 ^a ± 0.20	15.80 ^a ± 0.17	15.86 ^a ± 0.10
ER "	9.45 ^b ± 0.29	8.35 ^a ± 0.31	8.51 ^a ± 0.12
EBI (MJ/Kg pez)	19.36 ^a ± 0.33	20.37 ^{ab} ± 0.53	21.11 ^b ± 0.22
EDI "	15.98 ^a ± 0.27	16.15 ^a ± 0.34	16.85 ^a ± 0.34
EMI "	15.28 ^a ± 0.24	15.43 ^a ± 0.34	16.06 ^a ± 0.31
ER "	8.91 ^a ± 0.13	8.16 ^a ± 0.48	8.62 ^a ± 0.21
EPR "	4.16 ^a ± 0.06	3.99 ^a ± 0.17	4.02 ^a ± 0.06
EGR "	4.76 ^a ± 0.09	4.18 ^a ± 0.30	4.60 ^a ± 0.15
EBI/Incr. peso (MJ/Kg)	20.06 ^a ± 0.66	21.61 ^{ab} ± 0.69	22.27 ^b ± 0.28
EDI/Incr. peso "	16.56 ^a ± 0.54	17.12 ^a ± 0.09	17.77 ^a ± 0.22
EMI/Incr. peso "	15.83 ^a ± 0.50	16.36 ^a ± 0.44	16.94 ^a ± 0.20
EM (% EBI)	78.92 ^b ± 0.11	75.72 ^a ± 0.15	76.07 ^a ± 0.18
EM (% EDI)	95.59 ^a ± 0.14	95.55 ^a ± 0.09	95.30 ^a ± 0.05
ER (% EBI)	46.09 ^b ± 1.40	40.01 ^a ± 1.49	40.80 ^a ± 0.55
ER (% EDI)	55.83 ^a ± 1.70	50.48 ^a ± 1.88	51.12 ^a ± 0.69
ER (% EMI)	58.39 ^a ± 1.70	52.83 ^a ± 1.91	53.64 ^a ± 0.71

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). en todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

Por lo que se refiere a las pérdidas de energía, a partir de la energía bruta de la dieta, los resultados obtenidos (Tabla 4.47) indican diferencias sólo a nivel de las pérdidas fecales, siendo éstas mayores en los animales alimentados con las dietas que contenían girasol.

Tabla 4.47. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre el reparto de las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de la dieta.

	C ₃	G ₂	G ₂ S
EF (MJ/Kg dieta)	3.58 ^a	4.33 ^b	4.21 ^b
	± 0.05	± 0.06	± 0.06
EU+EZ "	0.74 ^a	0.74 ^a	0.78 ^a
	± 0.02	± 0.01	± 0.03
EC "	6.73 ^a	7.45 ^a	7.35 ^a
	± 0.26	± 0.27	± 0.18
EF (% Energía Bruta)	17.44 ^a	20.75 ^b	20.18 ^b
	± 0.26	± 0.30	± 0.31
EU+EZ "	3.64 ^a	3.53 ^a	3.75 ^a
	± 0.12	± 0.04	± 0.04
EC "	32.83 ^a	35.71 ^a	35.26 ^a
	± 1.29	± 0.82	± 0.52

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). en todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

En la Tabla 4.48 se expresan los resultados obtenidos en la ingesta de nutrientes dietarios (g/100 g pez) y de las relaciones PD/ED y PR/EM (g/MJ). Hemos de decir que, cuando se comparan los datos, en cuanto a macronutrientes digestibles, pertenecientes a cada una de las tres dietas experimentales de este ensayo, no hay diferencias estadísticamente significativas entre ellos; con la excepción de los hidratos de carbono digestibles, expresados en g/100 g dieta y como HCD ingeridos/100 g pez,

que muestran valores estadísticamente superiores para la dieta control.

Por lo que respecta a las relaciones P/E, los valores fueron similares para las tres dietas, no existiendo diferencias significativas entre ellos.

Tabla 4.48. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización digestiva de los macronutrientes y las relaciones P/E de las dietas.

	C ₃	G ₂	G ₂ S
PD (g/100 g dieta)	37.49 ^a	35.83 ^a	36.50 ^a
	± 0.95	± 0.68	± 0.53
GD "	10.31 ^a	10.60 ^a	10.50 ^a
	± 0.15	± 0.09	± 0.11
HCD "	21.01 ^b	17.22 ^a	17.86 ^a
	± 0.18	± 0.12	± 0.15
PBI (g/100 g pez)	39.85 ^{ab}	38.85 ^a	40.55 ^b
	± 0.33	± 0.34	± 0.73
PDI "	35.39 ^a	35.26 ^a	36.97 ^a
	± 0.86	± 0.92	± 0.77
GBI "	10.49 ^a	11.36 ^b	11.53 ^b
	± 0.26	± 0.25	± 0.38
GDI "	9.74 ^a	10.43 ^a	10.64 ^a
	± 0.50	± 0.53	± 0.75
HCBI "	24.29 ^a	24.97 ^{ab}	26.27 ^b
	± 0.44	± 0.56	± 0.83
HCDI "	19.83 ^b	16.95 ^a	18.09 ^a
	± 0.32	± 0.86	± 0.53
PD/ED (g/MJ)	22.15 ^a	21.66 ^a	21.94 ^a
	± 0.37	± 0.27	± 0.44
PR/EM "	11.62 ^a	11.03 ^a	10.69 ^a
	± 0.46	± 0.27	± 0.45

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). en todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

4.4.3.2. INFLUENCIA DE LA MEZCLA DE DOS FUENTES PROTEICAS VEGETALES Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS SOBRE LA UTILIZACION DE UNA DIETA FORMULADA EN ENERGIA DIGESTIBLE

La proteína de la dieta experimental correspondiente a este ensayo vino aportada por dos fuentes proteicas vegetales, harina de girasol y gluten de maíz. La suplementación con aminoácidos se realizó con el criterio de que el patrón de aminoácidos digestibles de la dieta experimental fuera semejante al de la dieta control, donde la proteína era aportada por la harina de pescado. La dieta experimental se formuló isocalórica en energía digestible con respecto a la dieta control.

Los resultados obtenidos en los distintos parámetros e índices nutritivos se muestran en las Tablas 4.49 a 4.56.

En la Tabla 4.49, se puede observar que la dieta experimental promovió valores de ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento inferiores a los de la dieta control.

Tabla 4.49. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la ingesta, crecimiento e índice de conversión del alimento.

	N° peces	Peso medio inicial (g)	Peso medio final (g)	Ingesta (%peso.día ⁻¹)	Incr. Peso (% pmi)	TCI	IC
C ₃	28	34.82 ^a ± 0.57	99.90 ^b ± 1.15	1.63 ^b ± 0.03	187.09 ^b ± 5.77	1.82 ^b ± 0.03	1.03 ^b ± 0.03
GLGS	30	36.16 ^a ± 0.97	70.50 ^a ± 3.12	1.42 ^a ± 0.06	94.86 ^a ± 5.09	1.00 ^a ± 0.19	0.78 ^a ± 0.01

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (tres lotes de animales por dieta).

En la Tabla 4.50 se indica la composición en macronutrientes y el contenido en Cr_2O_3 de las heces procedentes de las diferentes dietas.

Tabla 4.50. Composición en macronutrientes y contenido en Cr_2O_3 de las heces (% s/ss).

	C ₃	GLGS
Proteína	18.88	9.92
	± 0.13	± 0.44
Grasa	3.18	4.83
	± 0.13	± 0.26
Cenizas	34.32	10.56
	± 0.28	± 0.53
Fibra bruta	24.74	41.08
	± 0.22	± 0.25
H. Carbono	18.88	33.61
	± 0.44	± 0.52
Energía (MJ/Kg)	14.28	17.87
	± 0.10	± 0.39
Cr_2O_3	1.41	1.15
	± 0.02	± 0.02

En todos los casos n=3 (muestras de heces procedentes de cada dieta).

En cuanto a los Coeficientes de Digestibilidad Aparente (Tabla 4.51), los resultados reflejan un mejor uso digestivo de la proteína de la dieta experimental (GLGS) respecto a la dieta control; el resto de macronutrientes de la dieta experimental, se digirieron en menor proporción que los de la dieta control, no obstante, la digestibilidad de la dieta, en materia seca, fue igual para ambas.

Tabla 4.51. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los macronutrientes de la dieta.

	Coeficientes de Digestibilidad Aparente					
	P	G	MELN	HC	MO	MS
C ₃	88.80 ^a ± 0.15	92.84 ^b ± 0.33	67.15 ^b ± 0.25	81.64 ^b ± 0.43	81.00 ^b ± 0.15	74.96 ^a ± 0.24
GLGS	93.67 ^b ± 0.29	89.25 ^a ± 0.62	55.79 ^a ± 0.90	68.44 ^a ± 0.46	75.87 ^a ± 0.52	74.67 ^a ± 0.55

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (tres muestras de heces procedentes de cada dieta).

Por lo que respecta a la composición corporal, se observó un aumento significativo del contenido proteico y de la humedad de los animales alimentados con la dieta experimental; por el contrario, estos animales presentaron un menor porcentaje de grasa y un contenido inferior en energía bruta que los animales control (Tabla 4.52).

Tabla 4.52. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la composición corporal de los animales (% s/ss; energía MJ/Kg ss).

	Proteína	Grasa	Cenizas	Energía	Humedad
Inicial	74.49 ± 0.77	14.91 ± 1.09	11.73 ± 0.39	22.61 ± 0.09	78.74 ± 0.34

C ₃	61.48 ^a ± 0.49	36.86 ^b ± 0.57	7.88 ^a ± 0.17	26.99 ^b ± 0.19	71.52 ^a ± 0.18
GLGS	64.51 ^b ± 0.45	28.18 ^a ± 0.62	8.81 ^b ± 0.20	25.37 ^a ± 0.19	73.87 ^b ± 0.20

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En el punto inicial $n=3$, en el punto final $n=9$ (muestras en que se dividió la totalidad de animales del punto inicial (3) y final (9)).

Cuando se evalúa la utilización que, de la proteína dietaria, hacen los animales, se puede observar que todos los índices presentan valores significativamente inferiores, para los animales alimentados con la dieta experimental, al compararlos con los resultados de la dieta control (Tabla 4.53).

Tabla 4.53. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de la proteína dietaria.

	Ingesta (g s/ss)		Incr. peso (g s/sf)	N Corporal (g s/sf)		CEC	VPP (%)	VBA (%)
	Proteína	Nitrógeno		Inicial	Final			
C ₃	756.37	121.02	1853.33	24.88	79.36	2.43 ^b ± 0.08	44.61 ^b ± 1.38	50.24 ^b ± 1.55
GLGS	535.39	85.66	1054.33	28.11	58.35	1.97 ^a ± 0.01	35.32 ^a ± 0.24	37.71 ^a ± 0.26

Los valores, en la misma columna, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada índice en los tres lotes experimentales de cada dieta).

En cuanto al destino de la energía de las dietas (Tabla 4.54), se puede observar que, de acuerdo con el diseño experimental de este ensayo, las dietas presentaron el mismo contenido en energía digestible (MJ/Kg dieta). Los resultados obtenidos con la dieta experimental, en cuanto al uso de la energía dietaria, fueron peores que los obtenidos con la dieta control a todos los niveles.

Tabla 4.54. Influencia de la mezcla de materias primas vegetales y de la suplementación con aminoácidos sobre el destino de la energía dietaria.

	C ₃	GLGS
CDA Energía	82.56 ^b ± 0.34	78.94 ^a ± 0.72
EB (MJ/Kg dieta)	20.51	21.51
ED "	16.93 ^a ± 0.12	16.98 ^a ± 0.15
EM "	16.19 ^a ± 0.20	16.05 ^a ± 0.12
ER "	9.45 ^b ± 0.29	6.69 ^a ± 0.11
EBI (MJ/Kg pez)	19.36 ^b ± 0.33	17.67 ^a ± 0.75
EDI "	15.98 ^b ± 0.27	13.95 ^a ± 0.59
EMI "	15.28 ^b ± 0.24	13.19 ^a ± 0.56
ER "	8.91 ^b ± 0.13	5.50 ^a ± 0.23
EPR "	4.16 ^b ± 0.06	2.70 ^a ± 0.11
EGR "	4.76 ^b ± 0.09	2.80 ^a ± 0.12
EBI/Incr. peso (MJ/Kg)	20.06 ^a ± 0.66	27.49 ^b ± 0.18
EDI/Incr. peso "	16.56 ^a ± 0.54	21.70 ^b ± 0.14
EMI/Incr. peso "	15.83 ^a ± 0.50	20.51 ^b ± 0.13
EM (% EBI)	78.92 ^b ± 0.11	74.63 ^a ± 0.02
EM (% EDI)	95.59 ^b ± 0.14	94.54 ^a ± 0.02
ER (% EBI)	46.09 ^b ± 1.40	31.11 ^a ± 0.05
ER (% EDI)	55.83 ^b ± 1.70	39.41 ^a ± 0.07
ER (% EMI)	58.39 ^b ± 1.70	41.69 ^a ± 0.06

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

Las pérdidas energéticas, derivadas de la energía bruta de las dietas (Tabla 4.55), fueron superiores en la dieta GLGS, a todos los niveles.

Tabla 4.55. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de la dieta.

	C ₃	GLGS
EF (MJ/Kg dieta)	3.58 ^a	4.53 ^b
	± 0.05	± 0.13
EU+EZ "	0.74 ^a	0.92 ^b
	± 0.02	± 0.01
EC "	6.73 ^a	9.36 ^b
	± 0.26	± 0.01
EF (% Energía Bruta)	17.44 ^a	21.06 ^b
	± 0.26	± 0.61
EU+EZ "	3.64 ^a	4.31 ^b
	± 0.12	± 0.02
EC "	32.83 ^a	43.52 ^b
	± 1.29	± 0.33

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

En cuanto al contenido en macronutrientes digestibles de las dos dietas (Tabla 4.56), sólo se encontraron diferencias en el nivel de hidratos de carbono.

Los resultados obtenidos en cuanto a la ingesta de macronutrientes (g/100 g pez), reflejan lo ya comentado para la ingesta de alimento; los valores obtenidos para la dieta GLGS fueron significativamente inferiores a los de la dieta control.

Los valores obtenidos para las relaciones proteína/energía (Tabla 4.56) se derivan de todo lo comentado anteriormente; mientras que la relación PD/ED es similar en ambas dietas, el valor de la relación PR/EM de la dieta GLGS es significativamente inferior al de la dieta control.

Tabla 4.56. Influencia de la mezcla de dos fuentes proteicas y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización digestiva de los macronutrientes y las relaciones P/E de las dietas.

	C ₃	GLGS
PD (g/100 g dieta)	37.49 ^a	37.19 ^a
	± 0.95	± 0.18
GD "	10.31 ^a	10.17 ^a
	± 0.15	± 0.13
HCD "	21.01 ^b	18.45 ^a
	± 0.18	± 0.19
PBI (g/100 g pez)	39.85 ^b	32.62 ^a
	± 0.33	± 0.48
PDI "	35.39 ^b	30.56 ^a
	± 0.86	± 0.45
GBI "	10.49 ^b	9.37 ^a
	± 0.26	± 0.14
GDI "	9.74 ^b	8.41 ^a
	± 0.50	± 0.15
HCBI "	24.29 ^b	22.15 ^a
	± 0.44	± 0.32
HCDI "	19.83 ^b	15.16 ^a
	± 0.32	± 0.23
PD/ED (g/MJ)	22.15 ^a	21.90 ^a
	± 0.37	± 0.39
PR/EM "	11.62 ^b	8.74 ^a
	± 0.46	± 0.34

Los valores, en la misma fila, con distinto superíndice, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En todos los casos $n=3$ (valor obtenido para cada uno de los lotes de animales en cada dieta).

5. DISCUSSION

5.1. INFLUENCIA DEL METODO DE RECOGIDA DE HECES SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

La determinación de la utilización digestiva de los ingredientes de una dieta, o del Coeficiente de Digestibilidad de los nutrientes, es esencial de cara a la valoración de dichos ingredientes y a la formulación de dietas. Sin embargo, en el caso de los peces, el medio acuático plantea serios inconvenientes a la hora de realizar la determinación de este índice, debido a la dificultad de obtener muestras de heces representativas y en cantidad suficiente. Por ello, no es de extrañar que se hayan desarrollado diversos métodos de recogida de excretas, y que exista una cierta controversia en cuanto a la idoneidad de cada uno de ellos (ver Información Bibliográfica).

En nuestro caso, hemos elegido una columna de decantación, basada en el diseño de Cho *et al.* (1975, 1982), si bien con ligeras modificaciones que se describen en el apartado 3.2.1 de Material y Métodos.

Las modificaciones que hemos realizado en el diseño de la columna de sedimentación facilitaron la recogida de heces, al suprimir uno de los pasos del proceso consistente en el trasvase de las heces desde la columna de sedimentación hasta el recipiente donde posteriormente se centrifugarán. En efecto, en el diseño de Cho *et al.* (1975, 1982), la recogida de heces se realiza a través de un conducto de diámetro pequeño (menor de 1.5 cm), lo que facilita su ruptura. Esta se ve, además, favorecida por el hecho de que las heces son impulsadas hacia el recipiente de recogida, debido al peso de la columna de agua que hay sobre ellas. Esta inevitable ruptura de los "elementos formes fecales" aumenta las posibilidades de que se produzca lavado de los componentes fecales por disolución en el agua, los cuales se perderían, parte en el agua de la columna y parte en el sobrenadante que se descarta tras la etapa de centrifugación.

Para Cho *et al.* (1982) la ruptura de las heces, debida a la manipulación física de las mismas, es la causa principal de pérdida de componentes fecales por lavado, lo

que supone un serio error en el cálculo de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente; de ahí que los autores aconsejen un especial cuidado en esta etapa de recogida.

La primera valoración que cabría realizar sobre nuestro diseño se centra en el posible efecto, de los cambios que hemos introducido, sobre la cantidad de muestra recogida. Para ello, y como se ha descrito en el apartado 3.1 de Material y Métodos, utilizamos nuestra columna y otra similar a la diseñada por Cho *et al.* (1975, 1982) para recoger las heces, procedentes de una dieta que se estaba utilizando como control en un ensayo de evaluación nutritiva de distintas fuentes proteicas; asimismo, se evaluó la cantidad de heces que se recogían procedentes de cada una de las dietas experimentales usadas en dicho ensayo (Ensayo 7).

Aunque los datos no son absolutamente comparables, si se tiene en cuenta la diferencia de régimen alimentario: mientras Cho y colaboradores alimentaban a los animales tres veces al día, nosotros lo hacemos sólo dos, sin embargo, la cantidad de excretas recogidas diariamente, expresada como gramos de heces/Kg de animal (Tabla 4.1) es similar al valor máximo orientativo que estos autores obtienen (1g/Kg peso). En cualquier caso, la valoración del método de recogida, en este aspecto, debe realizarse en base a parámetros que eliminen la causa principal de distorsión que origina la ingesta. Atendiendo a esta consideración, en la Tabla 4.1 se expresa la cantidad recogida de heces en función del alimento no digerido. Con esta forma de expresión de resultados, la cantidad de heces recogida no difiere (desde el punto de vista estadístico) al comparar la columna del "Sistema Guelph" frente a nuestro diseño: 44.2% de las heces emitidas y 45.6%, respectivamente.

Por otra parte, estos porcentajes de recuperación de heces (superiores al 40%) son absolutamente satisfactorios, a nuestro juicio, dado que creemos que garantizan la representatividad de la muestra obtenida, si bien, carecemos de datos bibliográficos que nos sirvan de referencia. Hay que admitir, no obstante, que estos cálculos son sólo aproximaciones, mas o menos complejas, a la realidad, ya que se parte de una serie de asunciones no totalmente ciertas como, por ejemplo, que la emisión de heces se realiza de forma homogénea, y más o menos continua, a lo largo de las 24 horas.

En cuanto a los resultados obtenidos con las dietas que incorporaron distintas fuentes de proteína (Tabla 4.2), el porcentaje de recuperación de heces (% de alimento no digerido) procedentes de cada dieta, permanece razonablemente constante a lo largo de los cinco periodos en que se determinó, como se puede deducir de la baja dispersión de los errores estandar de las medias (inferiores al 7%). Sin embargo, sí se aprecia una dispersión en los valores, en función de las materias primas que integran cada dieta; valores de recogida que oscilan entre el 26.35 y el 59.67% del alimento no digerido. Estas diferencias en el porcentaje de heces recogidas, en función del alimento no digerido, indican, con toda probabilidad, una diferente densidad de las heces, provocada por las distintas materias primas incorporadas a las dietas.

La optimización de la recogida de heces (en cuanto a cantidad) habría requerido, probablemente, cambios en el flujo de agua circulante en algunas de las cubas, lo que llevaría implicado, a su vez, modificar las condiciones del experimento, desde provocar distintos tiempos de sedimentación de las heces en la columna, hasta que los cambios en el porcentaje de renovación del medio produjesen diferente aporte de oxígeno y/o retirada de catabolitos, como el NH_3 , que habrían dificultado la valoración nutritiva de las distintas dietas. De cualquier forma, las cantidades recogidas de heces, aún en el peor de los casos (dieta CA40), han sido más que suficientes para considerarlas representativas de las emitidas y para realizar varias réplicas de análisis de nutrientes y energía, por lo que, desde este punto de vista, nuestro dispositivo experimental puede considerarse satisfactorio.

Por otra parte, una vez discutidos los efectos del sistema de recogida de heces sobre la cantidad de muestra, procede evaluar si existen diferencias en cuanto a la calidad de la muestra, de forma que repercuta en la determinación de los Coeficientes de Digestibilidad. En efecto, también se aprecia una clara influencia del método de recogida de heces sobre los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de Proteína, Grasa y MELN (Tabla 4.4). En el caso de las heces obtenidas por presión abdominal, la escasez de muestra obtenida solo permitió realizar análisis, con suficiente número de réplicas, para la proteína, nutriente que, por otra parte, es quizá el que se ve más afectado, en cuanto a determinación del Coeficiente de Digestibilidad, por el método

de recogida de heces, no sólo por la composición de los fluidos que pueden contaminar las heces, sino porque un elevado porcentaje del nitrógeno fecal es soluble en agua y, por tanto, susceptible de perderse por lavado (Smith *et al.*, 1980); si bien, estos autores posiblemente sobrevaloren la cantidad de nitrógeno soluble en heces, dado que su sistema de recogida de las mismas y de mantenimiento de los animales (cámara metabólica), con toda probabilidad provoca estrés en los peces, lo que, a su vez, puede producir alteraciones en el tránsito intestinal y en la absorción de nutrientes (Talbot, 1985). Así, las cuidadosas condiciones de recogida y estandarización bajo las que se realizó la toma de muestras por presión abdominal, no han impedido que, tal y como se refleja en bibliografía (Cho y Slinger, 1979; Spyridakis *et al.*, 1989a), los valores de los Coeficientes de Digestibilidad, obtenidos por este método, sean significativamente inferiores a los calculados mediante el análisis de las heces recogidas en la columna de sedimentación o por otros métodos (Austreng, 1978; Windell *et al.*, 1978). La explicación a este fenómeno parece residir, tal y como apuntan estos trabajos, en una posible contaminación de las muestras de heces con epitelio intestinal, mucus, fluidos sexuales y/o secreciones intestinales, lo que indudablemente contribuiría a una disminución del Coeficiente de Digestibilidad. Tampoco hay que olvidar que las heces no son emitidas naturalmente y que, en las porciones finales del intestino, puede producirse absorción de nutrientes, tal y como evidenció Austreng (1978), e incluso pueden absorberse moléculas enteras de proteína por fenómenos de endocitosis (Sire y Vernier, 1992).

En cualquier caso, y de cara a nuestra investigación, los resultados más destacables serían los que se refieren a los Coeficientes de Digestibilidad Aparente obtenidos con nuestro diseño de columna, en comparación con los del dispositivo de decantación tradicional. En efecto, los valores de digestibilidad aparente de la proteína, grasa y MELN son significativamente menores, en el caso de las heces recogidas con nuestro diseño de columna de sedimentación, quedando los valores de CDA de la proteína situados entre los de la columna habitual y los obtenidos a partir de heces recogidas mediante presión abdominal.

Este último hecho nos sugiere que se han corregido, al menos en parte, algunos

de los inconvenientes que se atribuyen a los otros métodos de recogida de heces. En comparación con la recogida por presión abdominal, se eliminan las interferencias que podrían provocar los ciclos nictamerales de emisión de heces (Possompes, 1973) ya que, en el caso de la columna, la recogida se realiza de forma continua durante unas 14 horas diarias, también se eliminarían los efectos que el estrés de los respectivos muestreos pueda provocar sobre la digestión y absorción de nutrientes (Talbot, 1985) y, por supuesto, los problemas ya comentados de recoger heces no emitidas de forma natural (Austreng, 1978). Por otra parte, parece que hemos eliminado una de las causas de "lavado" de nutrientes, principal inconveniente del método de recogida por sedimentación, al suprimir el trasvase de las heces desde la columna de sedimentación hasta los recipientes donde se centrifugan.

Estos resultados apoyan la opinión de Cho *et al.* (1982), así como nuestra hipótesis de partida, acerca de la importancia de evitar la ruptura de las heces durante la toma de muestras, si bien contrastan en cierta medida con lo obtenido por Spyridakis *et al.* (1989a), quienes no hallaron concentraciones apreciables de nitrógeno disuelto en el sobrenadante, tras la centrifugación de heces obtenidas de una columna de sedimentación estándar. Sobre los resultados de estos últimos autores cabe, no obstante, realizar las siguientes puntualizaciones:

- En primer lugar, la especie de trabajo fue distinta, tratándose en su caso de lubina, y, obviamente, también lo fue la composición de la dieta que se suministró a los animales.
- Por otra parte, el diseño del sistema de recogida de heces también fue diferente, no solo en cuanto a la forma de los tanques, sino a la configuración del sistema de decantación; todo ello pudo influir en el tiempo de captación de las heces y, por tanto, en un mayor "lavado" de las mismas, antes de ser atrapadas en la columna, tal y como los propios autores admiten.

De todos modos, y respecto a estos resultados, quizá la diferencia más importante a valorar sea la salinidad del medio y su posible influencia sobre las

pérdidas de la fracción soluble del nitrógeno fecal.

Continuando con la evaluación de nuestro sistema de recogida de heces, en la Tabla 4.6 aparecen los valores de CDA de la proteína de dietas experimentales formuladas con diferentes fuentes proteicas, calculados a partir de heces recolectadas bien mediante presión abdominal o bien mediante nuestra columna de sedimentación. En líneas generales, tal y como se esperaba, los Coeficientes de Digestibilidad son más altos cuando se calculan a partir de los análisis de las heces recogidas mediante sedimentación; sin embargo, no parece existir una pauta constante en la diferencia entre ambos valores e, incluso, en determinados lotes experimentales (los que ingirieron las dietas con harina de algodón y de altramuz) la tendencia se invierte, si bien no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos por ambos métodos; de hecho, cuando se correlacionan los CDA de la proteína de las dietas, obtenidos a partir de heces provenientes de presión abdominal, frente a los calculados a partir de muestras de heces recogidas por decantación, el coeficiente de correlación que se obtiene ($r = 0.870$; $r^2 = 75.76$) es significativo ($p < 0.01$), ajustándose ambos índices a la siguiente ecuación: $y = 0.853x + 14.358$, donde "y" es el CDA de la proteína calculado a partir de análisis de heces recogidas en nuestra columna de sedimentación. A nuestro juicio, todo ello pone de manifiesto, una vez más, la especial dificultad que entraña la estandarización del método de recogida de heces mediante presión abdominal, pese a que, en nuestro caso, hemos eliminado uno de los elementos de error más frecuente, como es la repetición de los muestreos en los mismos animales, que es causa indudable de estrés y de alteraciones en la ingesta y tiempos de tránsito del alimento (Talbot, 1985), ya que la obtención de heces por presión abdominal se realizó post mortem.

Como resumen, cabría destacar que nuestro diseño disminuye ligeramente los CDA obtenidos, en relación a la columna de sedimentación del "Sistema Guelph", probablemente debido a que disminuyen las pérdidas por lixiviación de los compuestos fecales, con lo que se atenúa el principal inconveniente que se le atribuye a este método (Choubert *et al.*, 1982, 1983; Spyridakis *et al.*, 1989a).

5.2. INFLUENCIA DEL MARCADOR INERTE DIETARIO SOBRE LA DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE

Desde que el método indirecto de determinación de los Coeficientes de Digestibilidad, ideado por Edin (1918), se empleó en peces (Nose, 1960), el marcador inerte más utilizado ha sido, sin duda, el sesquióxido de cromo (Cr_2O_3), incorporado a las dietas en proporciones inferiores al 2%. No obstante, no está absolutamente claro que el Cr_2O_3 se mueva a través del tracto gastrointestinal con igual velocidad que el resto de la ingesta (Bowen, 1978; Hephher, 1988), especialmente a elevados niveles de éste en la dieta (Tacon y Rodriguez, 1984). La necesidad de adicionarlo a las dietas, y el característico color verde que les confiere, ha inducido a varios investigadores a ensayar otros indicadores que o bien se hallen presentes en las materias primas (marcadores internos), o bien no alteren las propiedades organolépticas del pienso o, incluso, sean más fácilmente analizables.

Por otra parte, tanto las posibilidades de lixiviación, como la recuperación analítica de diferentes indicadores puede ser distinta y afectar al valor de los Coeficientes de Digestibilidad. Atendiendo a este último hecho, los análisis de cromo se han realizado mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica, en el destilado resultante de realizar la digestión con sulfúrico para determinar proteína por el método Kjeldahl. Este sistema presenta una recuperación de cromo mucho mayor que la obtenida tras la clásica digestión con nítrico/perclórico, según constataron Lied *et al.* (1982).

Los otros indicadores que hemos evaluado (cenizas insolubles en ácido y fibra bruta) han demostrado ser indigestibles para la trucha y, por ello, se han usado como indicadores en alguna ocasión, con resultados satisfactorios (Buddington, 1980; Hilton *et al.*, 1983; Atkinson *et al.*, 1984). En nuestro caso, cabe destacar el diseño experimental de este ensayo, donde se han probado simultáneamente los tres indicadores y sobre los mismos animales, ya que se han incorporado a la misma dieta; asimismo, la analítica se ha realizado sobre las mismas muestras de heces, lo que ha eliminado

fuentes de error en los resultados. En cuanto a los resultados obtenidos con la dieta control (Tabla 4.8) se puede apreciar que, en aquellos en que se han utilizado las cenizas insolubles en ácido (CIA) para el cálculo, todos los valores son significativamente superiores, con respecto a los CDA calculados a partir del sesquióxido de cromo, con diferencias que son mínimas en el caso de los CDA de la grasa y la proteína, y que se hacen máximas para los del MELN y los hidratos de carbono. Todo lo contrario sucede cuando se usa la fibra bruta como indicador, los valores obtenidos son, en general, algo menores, y las diferencias muy pequeñas; de hecho, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los resultados de digestibilidad de la proteína y grasa.

Esta situación se repite cuando se usan los tres marcadores, para el cálculo de los CDA, en las siete dietas experimentales que incluían diferentes fuentes de proteína (Tabla 4.9). Nuevamente, los CDA calculados a partir de cenizas insolubles en ácido son clara y estadísticamente superiores a los hallados con Cr_2O_3 y fibra bruta. La única excepción la constituyen los CDA para la proteína y la grasa de la dieta CA100, que no difieren en función del marcador empleado. Esta misma tendencia a obtener Coeficientes de Digestibilidad más elevados, al utilizar la ceniza insoluble en ácido como marcador, ya ha sido puesta de manifiesto anteriormente por otros autores (Atkinson *et al.*, 1984; Cardenete y Cho, resultados no publicados), y parece indicar que existe el riesgo de una cierta sobrevaloración de la digestibilidad al usar este indicador. La causas no han sido establecidas y podrían ser múltiples: desde una mejor recuperación analítica en heces, hasta un pasaje intestinal anómalo; en este sentido, Bowen (1981) indica que una fracción significativa de cenizas resistentes a hidrólisis podría ser absorbida por el pez, lo que inutilizaría las posibilidades de uso de este marcador. Asimismo, podríamos pensar que, tal y como describen Tacon y Rodriguez (1984) para el caso del cromo, se produzcan diferentes tasas de paso relativas entre indicador y digesta, relacionadas también con el nivel del primero en la dieta. En cualquier caso, y para la digestibilidad de la proteína, se puede establecer una correlación entre los CDA calculados con Cr_2O_3 y CIA ($r = 0.772$; $p < 0.05$), que estarían ligados por la siguiente ecuación: $y = 1.177x - 20.365$; donde "y" es el CDA de la proteína calculado a partir de los valores de Cr_2O_3 . Es evidente que la

concordancia entre las dos series de valores no es excesivamente buena, si exceptuamos los ya mencionados coeficientes de digestibilidad de la proteína y la grasa de la dieta CA100, que permanecen prácticamente inalterables con independencia del marcador utilizado. Este hecho, tal vez sea debido al uso de la caseína como única fuente de proteína, una materia prima con un alto grado de pureza y, por consiguiente, que aporta muy pocas sustancias susceptibles de producir interacciones en las distintas determinaciones analíticas.

Por lo que respecta a los Coeficientes de Digestibilidad calculados a partir de los análisis de fibra bruta, son mucho más concordantes con los obtenidos a partir del sesquióxido de cromo, lo que se refleja en la ausencia de diferencias significativas entre los valores del CDA de la proteína calculado con ambos marcadores. Otro tanto cabría decir para el caso de la grasa y de la energía.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Schwarz y Kirchgebner (1982) en carpas, quienes no encontraron diferencias en la digestibilidad de la materia orgánica de la dieta al determinarla con sesquióxido de cromo o fibra bruta. De hecho, en nuestro experimento sólo existen diferencias significativas para los valores de CDA de la proteína de las dietas G y S, y sólo para la dieta S en el caso del CDA de la grasa. Estas dietas incorporan harinas de girasol y de soja respectivamente, que aportan cantidades importantes de fibra bruta, que de alguna manera podrían interferir en las determinaciones analíticas. De hecho, en estas dietas la cantidad de celulosa micronizada añadida fue menor, en relación al contenido total de fibra bruta de la dieta. Efectivamente, esta podría ser una explicación a los resultados obtenidos, sin embargo, no existió correlación, estadísticamente significativa, al relacionar la diferencia en porcentaje entre el CDA de la proteína calculado con fibra y con sesquióxido de cromo, por una parte, y el contenido en fibra bruta de las dietas por otra.

Todo ello nos induce a pensar que no es realmente la cantidad de fibra bruta aportada por cada materia prima, sino, de alguna manera, la calidad de la misma, lo que influye sobre su determinación. Así, bajo el denominador común de fibra bruta se determinan, aparte de la celulosa que constituye las paredes celulares vegetales, otras

sustancias que no son celulosa, sino carbohidratos complejos como las pentosanas (Steffens, 1987), y que, en parte, podrían digerirse; de hecho, Scerbina (1973) indicó que, en carpa, podía apreciarse una cierta digestibilidad de la fibra bruta presente en las semillas oleaginosas, lo cual implicaría un error a la baja en el cálculo de los CDA, de los cuales se verían especialmente afectados los correspondientes al MELN y los carbohidratos, tal y como hemos descrito para las dietas S y G.

En resumen, todo indica que la fibra bruta determinada en dietas y heces puede ser un excelente marcador alternativo al Cr_2O_3 en los estudios de digestibilidad, especialmente al determinar la digestibilidad de proteína y grasa, si bien parece que se pueden producir interferencias con algunos compuestos hidrocarbonados presentes en materias primas de origen vegetal. Por otra parte, las cenizas insolubles en ácido parece que inducen a sobrevalorar los Coeficientes de Digestibilidad de los distintos macronutrientes de las dietas, quedando por determinar si este hecho es debido a una cuestión metodológica.

5.3. INFLUENCIA DE DIFERENTES AGLUTINANTES DIETARIOS SOBRE EL USO DIGESTIVO DE LOS NUTRIENTES

La utilización de agentes aglutinantes, en los piensos para peces, es un hecho muy común, dado que permite compactar el pienso al tiempo que lo hace más estable en el agua. También los aglutinantes dietarios tienen importancia, "a priori", en los estudios de digestibilidad de nutrientes en los peces, y ésto por un doble motivo: en primer lugar, el aglutinante también compacta las heces emitidas y permite una recuperación más eficaz de las mismas asociada a una menor pérdida de nutrientes por lavado (De la Noüe y Choubert, 1986). En segundo término, porque muchos de los aglutinantes utilizados son fibras solubles, a las que se les reconoce un cierto papel negativo sobre los procesos digestivos y de absorción de nutrientes. Así, tal y como cita Krogdahl (1989) en una excelente revisión, las fibras solubles, como los alginatos, pueden producir alteraciones de la velocidad de tránsito intestinal, reducción de la biodisponibilidad de algunos minerales y vitaminas dietarios, disminución de la absorción de algunos nutrientes, etc.

Basándonos en todo lo anterior, decidimos realizar una prueba, con tres aglutinantes de posible inclusión en nuestras dietas, con objeto de evaluar su presumible impacto sobre el uso digestivo, en general, de los componentes del alimento. Ello nos permitiría elegir el más eficaz y el que menor distorsión produjese sobre la valoración de la utilización digestiva de las dietas experimentales.

Nuestros resultados, expresados en la Tabla 4.12, no permiten apreciar efecto alguno del tipo de aglutinante sobre la digestibilidad. La supuesta capacidad de los polímeros artificiales, como el Carbapol, de perder su configuración a determinados pH, lo que, en principio, podría redundar en una mejor protección de los nutrientes y una liberación gradual de los mismos, en zonas determinadas del tracto intestinal, no se ha puesto de manifiesto, a juzgar por los resultados de CDA. Tan solo se aprecia una ligera tendencia, de la dieta con carboximetil celulosa, a producir Coeficientes de Digestibilidad más elevados, para algunos nutrientes, aunque la dispersión de valores

no permite que estas diferencias se consoliden desde el punto de vista estadístico. Tampoco parece existir efecto alguno sobre la absorción de los principales iones divalentes de la dieta, que también podrían haberse visto afectados, en especial los sujetos a circulación enterohepática (Ca, Mg, Zn, Cu, etc.), (Krogdahl, 1989), ya que son fuertemente retenidos por algunas fibras solubles.

En resumen, quizá los niveles empleados (2%) hayan sido demasiado bajos como para poder apreciar efectos significativos del tipo de aglutinante; de hecho, los efectos negativos descritos por Storebakken (1985) y Storebakken y Austreng (1987), causados por distintos tipos de aglutinante, no se pusieron claramente de manifiesto hasta niveles de inclusión en dieta superiores al 5%. Asimismo, Spyridakis *et al.* (1989b) no hallaron efectos perjudiciales de la inclusión de alginato, sobre la digestibilidad de la proteína y la grasa, en dietas para lubina, hasta alcanzar niveles del 8% de la dieta. De cualquier manera, las pequeñas variaciones obtenidas al usar CMC podrían deberse a un cierto enlentecimiento de la velocidad de tránsito de la digesta, tal y como apunta Steffens (1987), con lo que se produciría un mejor uso digestivo de los nutrientes.

Se podría pensar, pues, en un cierto efecto biológico que diferencia a la CMC de los otros dos aglutinantes ensayados, si se consideran los resultados en conjunto, por lo que decidimos decantarnos por la primera materia prima en todos nuestros ensayos.

5.4. CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA MEDIANTE EL METODO DE SUSTITUCION DE UNA DIETA DE REFERENCIA. COMPROBACION MEDIANTE CONTROL CRUZADO

Antes de finalizar con los aspectos puramente metodológicos, de la determinación de la digestibilidad de los nutrientes de la dieta, deberíamos comentar hasta qué punto el método propuesto por Cho *et al.* (1985), de sustituir parte de la dieta de referencia por el ingrediente problema, da resultados más o menos reales. Por otra parte, y ésto se convierte en el objetivo principal de este ensayo, se trata de comprobar si la validez del método de sustitución se mantiene con la modificación que hemos realizado sobre su diseño original. Esta tiende a enfocar los experimentos sobre la valoración digestiva de las distintas proteínas, y consiste en que la sustitución se realiza sobre el contenido del nutriente (proteína) de la dieta de referencia, y no sobre el total de ésta.

En el diseño de Cho *et al.* (1985) se realiza la sustitución del 30% de la dieta por un ingrediente problema; en nuestro caso, se ha sustituido la proteína a distintos niveles en la dieta mezcla CA40, 60% cuando se considera la proteína de harina de pescado como experimental y 40% cuando la proteína experimental es la caseína.

Los resultados, que aparecen en la Tabla 4.13, expresan los valores de digestibilidad de la proteína de harina de pescado y de caseína, determinados a partir de dietas cuya proteína provenía exclusivamente de una de las dos fuentes mencionadas. Estos valores, que aparecen bajo el epígrafe CDA P directo, se contrastan con los calculados a partir de una dieta cuya proteína proviene en proporción 60/40 de las dos materias primas citadas. Esta última dieta nos permitió calcular la digestibilidad de ambas proteínas, usando en cada caso como dieta de referencia la dieta control con harina de pescado o la dieta CA100, con caseína.

Como se aprecia, el principio de proporcionalidad en el que se basa el método de sustitución de Cho *et al.* (1985) se sigue manteniendo en este caso y los resultados,

calculados a partir de la dieta "mezcla", no difieren, desde el punto de vista estadístico, de los obtenidos directamente. Según esto, no parecen existir, en nuestras condiciones experimentales, interacciones entre los nutrientes que afecten a su digestibilidad.

Así pues, y según lo expuesto anteriormente, la prueba de control cruzado nos ha permitido comprobar la validez del método realizado, de sustitución parcial de un nutriente de referencia por otro problema, y que nos permitirá, en los ensayos de evaluación digestiva de distintas materias primas, conocer de forma indirecta, aunque más precisa, los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de la proteína de las mismas.

5.5. DETERMINACION DE LA EXCRECION ENDOGENA DE PROTEINA Y CALCULO DEL COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD VERDADERO DE LA PROTEINA DIETARIA

Las secreciones intestinales, con enzimas y mucoproteínas, junto con los restos celulares provenientes de la continua descamación de la mucosa intestinal, suponen un aporte proteico extradietario, parte del cual no es digerido y aparece en heces. Así pues, este componente proteico fecal de origen endógeno contribuye a que se infravalore el Coeficiente de Digestibilidad de la proteína de la dieta. De ahí que se denomine Coeficiente de Digestibilidad Aparente al calculado obviando este aporte endógeno, y Verdadero al que lo considera. Nuestro interés, en determinar este aporte endógeno de proteína por parte del animal, radica precisamente en conocer hasta qué punto nuestra valoración del uso digestivo de las distintas proteínas de las dietas se halla distorsionada por este hecho, si bien los escasos trabajos realizados sobre este tema en peces, apuntan a que el efecto del componente proteico fecal de origen endógeno, sobre el cálculo de la digestibilidad de la proteína de la dieta, es tanto mayor cuanto menor es la cantidad de ingesta y que, según parece, las diferencias entre el CD Aparente y Verdadero de la proteína son mínimas con ingestas proteicas superiores a 150 mg/100 g de pez (Ogino y Chen, 1973a), lo que, en nuestro caso, sucede en la totalidad de los lotes experimentales. En la Tabla 4.14 aparecen los datos relativos a la determinación del aporte de proteína endógena, conseguidos mediante la administración de una dieta carente de proteína. Este método presenta el inconveniente de la difícil aceptación de la dieta por parte de los animales. En nuestro caso, quizá el alto contenido graso de la dieta contribuyó a que los animales ingirieran una cantidad global de alimento suficiente como para obtener muestras representativas de heces, de cara a nuestro estudio.

La composición en proteína de dichas heces (1.32% ss) viene a suponer en torno al 5 ó 6% del contenido medio de proteína fecal, lo que nos está indicando que el Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la proteína va a variar muy poco con respecto al Verdadero, al menos en nuestras condiciones experimentales. En efecto, la Tabla 4.15 muestra los cálculos de ambos índices para la proteína de las distintas dietas

experimentales. Las diferencias son muy pequeñas y, en el peor de los casos (dieta ALT), sólo se produce una variación de un 1.27% sobre el valor del CDA.

Cuando se aplicó la corrección del nitrógeno endógeno al cálculo de los Coeficientes de Digestibilidad de la proteína de las materias primas (Tabla 4.21), las diferencias entre Aparente y Verdadero son, globalmente consideradas, algo mayores; sin embargo, tampoco en este caso la discrepancia entre ambos valores es excesiva, situándose, como media, en torno al 1.4% del valor de referencia, es decir, del Coeficiente de Digestibilidad Aparente. Sólo en la dieta CA100, la proteína mejor digerida, hay diferencias significativas.

A la vista de los resultados, éstos parecen confirmar las apreciaciones de Ogino y Chen (1973a) y Cho *et al.* (1985), en el sentido de que, si la ingesta de alimento (proteína) es suficiente, los errores que se cometen al obviar el componente proteico de las heces de origen endógeno, en el cálculo de la digestibilidad de la proteína, son mínimos y, en nuestro caso, siempre inferiores al 2%. Todo ello, valida al Coeficiente de Digestibilidad Aparente como método fiable de determinación del uso digestivo de la proteína, sin necesidad de recurrir, en cada caso, a la valoración, siempre engorrosa, de la excreción fecal nitrogenada de origen endógeno.

5.6. INFLUENCIA DEL METODO DE DETERMINACION DEL CONTENIDO CALORICO CORPORAL SOBRE LA EVALUACION DEL RENDIMIENTO ENERGETICO DE LA DIETA

Para finalizar la discusión de lo que podríamos considerar aspectos metodológicos de este trabajo, hemos pretendido comprobar con qué grado de exactitud el análisis de la composición corporal, en cuanto a macronutrientes, puede servir de base para conocer su contenido energético y, así, calcular la cantidad de energía que los animales retienen a partir de la dieta. Esta es una forma de cálculo alternativa al método directo, por el que se mide el calor desprendido en la combustión de muestras corporales, llevada a cabo en una bomba calorimétrica adiabática.

Este último método es el más preciso, si bien requiere de un paso analítico más, que no siempre es posible en cualquier laboratorio. Por el contrario, el análisis de macronutrientes corporales puede adolecer de precisión ya que, al aplicar los valores calóricos estándar de cada uno de los componentes, no se considera que éstos puedan sufrir cierta variación según los casos (Jobling, 1983). En efecto, frente a los valores estándar propugnados por Brett y Groves (1979), y generalmente aceptados, de 9.45 kcal/g (39.54 KJ/g) para la grasa y 4.80 kcal/g (23.64 KJ/g) para la proteína, otros autores (Craig *et al.*, 1978; Beukema y Bruin, 1979) indican que, en los peces, el valor calórico de los lípidos tisulares puede ser menor. Este hecho puede ser causa de error apreciable, si consideramos que, en un pez, el contenido en proteína permanece relativamente constante, así como su composición en aminoácidos, determinada genéticamente, pero que la cantidad y calidad de la grasa acumulada en el pez puede variar atendiendo a factores tales como la edad, ingesta energética, equilibrio entre macronutrientes de la dieta (Hepher, 1988), "calidad" de la grasa dietaria (Ogino *et al.*, 1976) y condiciones ambientales (Watanabe, 1987).

Así pues, hemos abordado el cálculo, por ambos métodos, del rendimiento energético de cada una de las dietas utilizadas en nuestros ensayos de valoración de fuentes de proteína. Como se puede observar en la Tabla 4.16, al calcular de forma

indirecta el factor calórico de la grasa de los animales alimentados con distintas dietas experimentales, obtuvimos un valor medio de 35.29 KJ/g, más próximo al propuesto por Craig *et al.* (1978) y Beukema y Bruin (1979), que al 39.5 KJ/g establecido como factor calórico estándar de la grasa corporal, si bien se puede observar que estos valores calóricos cambiaron, dependiendo de la dieta que habían ingerido los animales. Por otra parte, al comparar este valor medio (35.29) con el obtenido al quemar la grasa corporal de los animales control en bomba calorimétrica (36.66), no se obtuvieron diferencias significativas.

Cuando determinamos el valor calórico de la proteína corporal, mediante combustión en bomba calorimétrica, encontramos un valor muy similar al establecido como estándar para la proteína corporal de los peces (23.46 y 23.64, respectivamente), no existiendo diferencias significativas entre ambos.

Cuando comparamos la retención energética de los animales alimentados con las distintas dietas experimentales, calculada de forma indirecta aplicando los factores calóricos obtenidos en bomba o los estándar (Tabla 4.17), con la retención energética calculada directamente, a partir del valor calórico de los animales medido en bomba calorimétrica, comprobamos que, mientras que al aplicar los factores calóricos obtenidos en bomba calorimétrica, no había diferencias significativas, en el caso de aplicar los factores establecidos como estándar, se produce una sobrevaloración que, en algunos casos (dieta A), alcanza el 6.5%.

Así pues, todos nuestros resultados apuntan a que el uso del factor de conversión calórica para la grasa de 39.54 KJ/g es incorrecto, ya que se sobrevalora claramente la energía acumulada en forma de grasa. Parece más adecuado, en caso de no ser posible la estimación directa en bomba calorimétrica, utilizar un valor intermedio (35.97) a los obtenidos de forma directa e indirecta (36.66 y 35.29 KJ/g) que, por otra parte, es muy similar al recomendado por Craig *et al.* (1978) y Beukema y Bruin (1979), si bien hay que considerar que, al comparar dietas con grasas de composición muy distinta, el uso de un factor común para todas ellas puede inducir a error, ya que el valor calórico real de los lípidos acumulados en los peces podría ser diferente.

5.7. VALORACION NUTRITIVA DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS. REPERCUSIONES NUTRITIVAS DERIVADAS DE SU INCLUSION COMO FUENTES DE PROTEINA SUSTITUYENDO PARCIAL O TOTALMENTE A LA HARINA DE PESCADO

En este apartado, analizaremos los resultados obtenidos al ensayar dietas formuladas con harina de soja, harina de girasol, harina de gluten de maíz, harina de algodón y harina de altramuz. Asimismo, junto a las anteriores y a una dieta control (formulada con harina de pescado), se analizarán los resultados obtenidos con dos dietas formuladas con caseína, utilizadas para verificar el cálculo indirecto del CDA de la proteína de las materias primas en un apartado anterior (5.4) y que, en éste, se usan para evaluar la caseína como una fuente proteica más.

La valoración de la proteína de la mayoría de las materias primas ensayadas por nosotros se ha realizado en numerosos trabajos de investigación; sin embargo, el objetivo principal de nuestro ensayo es el de la valoración de la materia prima en su conjunto, pues ésta contiene otros nutrientes energéticos no proteicos cuya utilización va a influir sobre el destino nutritivo de la proteína.

Como se ha descrito en el capítulo de Material y Métodos, todas las dietas se formularon isocalóricas en energía bruta y con idénticas proporciones de proteína, grasa e hidratos de carbono teóricamente disponibles a nivel digestivo (Tabla 3.6). La adición de hidratos de carbono (almidón pregelatinizado) se realizó teniendo en cuenta su contenido en las materias primas, hasta un nivel total del 20% de la dieta (ver Material y Métodos). Así, en el caso de las dietas fabricadas con materias primas que no contienen hidratos de carbono, o bien el nivel es muy escaso, la adición de almidón pregelatinizado cubrió la totalidad del componente hidrocarbonado dietario.

El análisis de las dietas puso de manifiesto que, en aquellas en las que el almidón pregelatinizado representaba la totalidad de los hidratos de carbono dietarios (C, CA100, CA40), el nivel teóricamente digestible de los mismos era ligeramente

superior al teóricamente ajustado y al del grupo de dietas que incluían cantidades sustanciales de hidratos de carbono, procedentes de las materias primas vegetales. Una causa que explicaría este hecho podría estar en la determinación indirecta del componente hidrocarbonado "digestible". Asimismo, el análisis de fibra, mediante el método Weende, es posible que no evalúe el total de hidratos de carbono no digestibles. Por otra parte, ciertas fracciones de carbohidratos, teóricamente digestibles, presentes en las materias primas vegetales (pentosanas), se suman a la fibra en su determinación (Steffens, 1987). Por último, parte de los ingredientes dietarios añadidos (correctores mineral y vitamínico) contienen excipientes hidrocarbonados que, junto con el aglutinante, en su mayor parte podrían condicionar los valores obtenidos en el nivel de hidratos de carbono tras el análisis de las dietas.

En la dieta control (C) y en la denominada CA100, la proteína fue aportada en su totalidad por harina de pescado y caseína, respectivamente. En el resto de las dietas (CA40, A, ALT, G, GL, S) la proteína de la harina de pescado se sustituyó en un 40% por la proteína de cada una de las materias primas (caseína, harina de algodón, harina de altramuz, harina de girasol, harina de gluten de maíz y harina de soja, respectivamente). La adición de grasa vegetal (aceite de maíz) y animal (aceite de pescado) se realizó considerando la aportada por la materia prima y fijando la relación 1:1 entre aceite de origen vegetal y animal.

En primer lugar estudiaremos los resultados obtenidos en el comportamiento alimentario y crecimiento de los animales alimentados con las diferentes dietas; asimismo, se evaluarán los índices de conversión del alimento y de la energía bruta del mismo. Posteriormente analizaremos los distintos índices de utilización digestiva y metabólica.

A. INGESTA, CRECIMIENTO E INDICES DE CONVERSION.

Por lo que se refiere a la evolución del nivel de ingesta, presentado por los animales a lo largo del periodo experimental, hay que decir que aumenta progresivamente y a medida que lo hace el peso (Fig. 5.1), resultados lógicos que

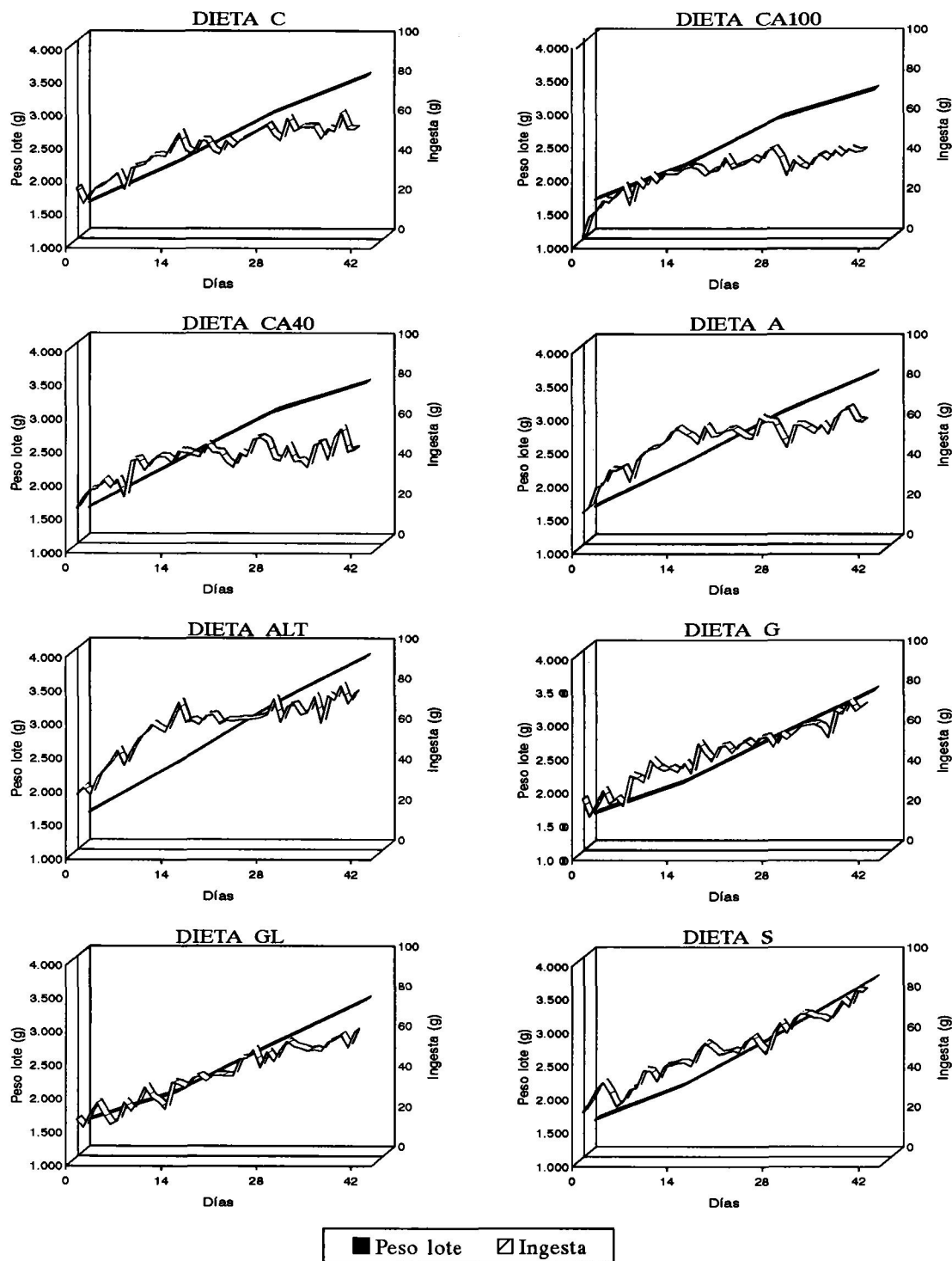


Fig. 5.1. Evolución del peso y la ingesta en los animales alimentados con las distintas dietas experimentales. (Cada valor representado corresponde a la media de los tres lotes experimentales).

concuerdan con lo expuesto por numerosos investigadores (Fischer, 1973; Fonds y Saksena, 1977; Elliott, 1979; Wootton *et al.*, 1980; From y Rasmussen, 1984; Cui y Wootton, 1988; Cui y Liu, 1990) acerca de que, a temperatura constante, es el peso el principal factor determinante del consumo de alimento. Asimismo, las fluctuaciones día a día en el consumo de alimento, estarían motivadas por las limitaciones fisiológicas del animal. Numerosos investigadores han descrito esta circunstancia en peces (Rozin y Meyer, 1961; Brett, 1971; Stirling, 1977; Smagula y Adelman, 1982; Fabridge y Leatherland, 1987; Cui y Wootton, 1988).

Al expresar los resultados de ingesta, en función del peso medio en cada subperiodo (Tabla 4.18; Fig. 5.2), se observa que el nivel de ingesta se ha mantenido constante para la mayoría de las dietas experimentales. Es sabido que, a medida que crecen los animales, el nivel de ingesta de alimento, expresado en porcentaje del peso corporal, disminuye (Ishiwata, 1970; Garber, 1983). En nuestro caso, las diferencias de peso, al principio y al final del ensayo, no son tan importantes como para que este hecho se manifieste, aunque para algunos lotes de animales así ocurre; concretamente, para los alimentados con las dietas CA40, A y ALT, la ingesta, en función del peso corporal, en el último subperiodo, presenta valores significativamente inferiores, cuando se comparan con los correspondientes a los subperiodos anteriores. Por último, los animales alimentados con la dieta que incluye gluten de maíz, tras un primer subperiodo de un bajo nivel de ingesta, en función del peso, en los siguientes subperiodos lo incrementan de forma significativa, hecho que posiblemente sea debido a una paulatina adaptación a las características organolépticas de la dieta.

El crecimiento de los animales, en términos absolutos, mostró una evolución parecida a la de la ingesta (Fig. 5.1), aumentando a lo largo del periodo experimental. Sin embargo, al analizar los incrementos de peso obtenidos en cada subperiodo (Tabla 4.18; Fig. 5.2), se observa que han ido disminuyendo progresivamente ya que, como es sabido, la pendiente de la curva de crecimiento de los animales disminuye con la edad (Cooper, 1961; Laarman, 1969; Winberg, 1971; Elliott, 1975).

Al relacionar ingesta y peso, durante el periodo experimental, la disminución

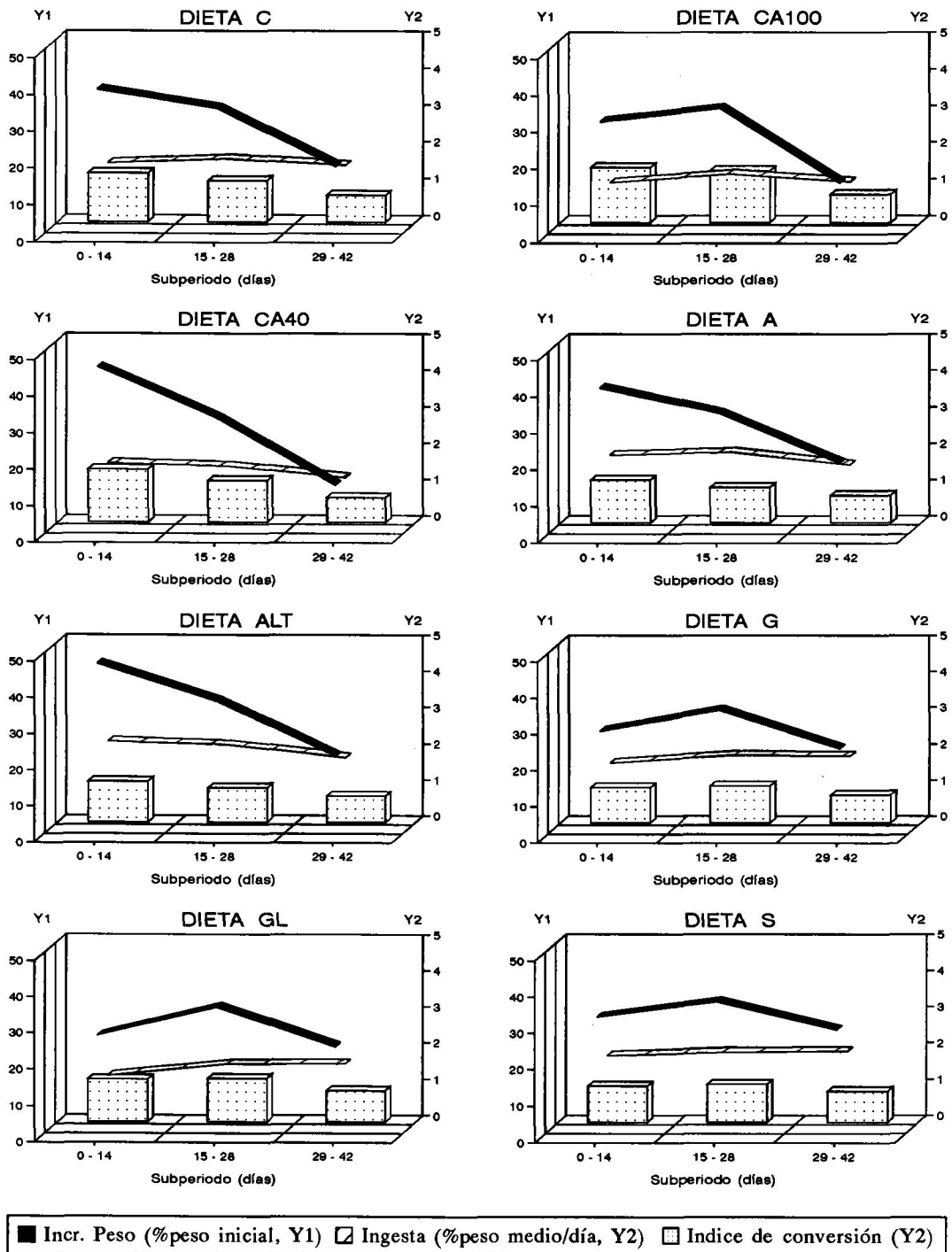


Fig. 5.2. Evolución del incremento de peso (% peso inicial de cada subperiodo), ingesta (% peso medio.día⁻¹ del subperiodo) e Índice de Conversión en los animales alimentados con las distintas dietas experimentales. (Cada valor representado corresponde a la media de los tres lotes experimentales).

paulatina de los índices de conversión (IC) es consecuencia de la progresiva menor pendiente de crecimiento para un nivel de ingesta (g/100 g pez) constante (Tabla 4.18; Fig. 5.2). El decremento en la eficiencia de utilización de la dieta, a medida que crecen los animales, ha sido puesta de manifiesto por otros autores (Mironova, 1976; Hephher, 1988).

Los resultados de ingesta global, expresados como % peso medio.día⁻¹ (Tabla 4.19), muestran una mayor aceptabilidad de la dieta que incorpora harina de altramus (ALT), seguida por las que incluyen harina de algodón (A), harina de soja (S) y harina de girasol (G). Es decir, todas las dietas fabricadas con fuentes proteicas vegetales excepto la que incorpora gluten de maíz, han sido ingeridas en mayor proporción que la dieta control. En el caso opuesto se encuentran las dietas fabricadas con caseína, sobre todo la dieta CA100.

Por lo que respecta a los resultados de ingesta de energía bruta (EBI/Kg pez, Tabla 4.26), al ser las dietas isocalóricas en energía bruta, son iguales a los anteriormente comentados. Para tratar de explicarlos, se podría en principio relacionar el nivel de dieta ingerido con las propiedades organolépticas de la misma. En el caso de la dieta formulada con caseína (CA100) este argumento tendría su apoyo, ya que dicha dieta no contenía, a diferencia de las demás, harina de pescado y es sabido la alta palatabilidad de esta última. De cualquier forma, esta hipótesis pasa a un segundo término cuando observamos el nivel de energía digestible ingerida (Tabla 4.26; Fig. 5.3) ya que las diferencias, que existían para la energía bruta ingerida, desaparecen. Es decir, el nivel de energía digestible ingerida para las dietas fabricadas con las materias primas vegetales, se iguala al de la dieta control, excepto para las dietas con soja y girasol, que continúan siendo ingeridas en mayor proporción. Por otra parte, la dieta CA100 también sigue presentando un menor nivel de ingesta de energía digestible. Cuando relacionamos el nivel de ingesta de alimento (% peso medio.día⁻¹) con la energía digestible (MJ/Kg dieta), aún incluyendo estas tres dietas (G, S y CA100), se obtiene una correlación ($r = -0.875$) con un nivel de significación muy alto (Fig. 4.3). Es decir, se podría emitir la hipótesis de que, para la mayoría de las dietas, los animales han tratado de compensar las diferencias en energía digestible (Tabla 4.26)

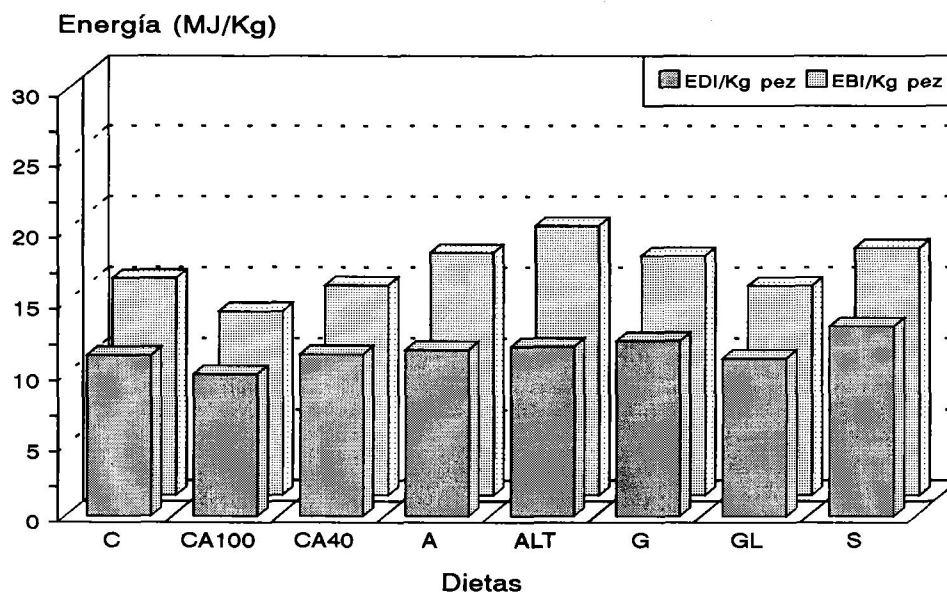


Fig. 5.3. Ingesta de energía bruta y digestible en los animales alimentados con distintas dietas experimentales. (Cada valor corresponde a la media de los tres lotes experimentales).

variando la ingesta, o dicho de otro modo, los animales regulan la ingesta de alimento en función de la energía digestible del mismo. Existen diversos trabajos, en distintas especies de peces, que hablan a favor de que éstos son capaces de controlar el nivel de dieta ingerida en función del contenido calórico de la misma (Rozin y Mayer, 1961; Grove *et al.*, 1978; Marais y Kissil, 1979; Ringler, 1979; Weisberg y Lotrich, 1982). Cho y Kaushik (1985) manifiestan que el verdadero factor determinante para promover autorregulación de la ingesta es el nivel de energía digestible, y no el de la energía bruta del alimento, hipótesis que estaría en parte de acuerdo con nuestros resultados. Pero, ¿cómo explicar el distinto comportamiento de los animales alimentados con las dietas S y G por una parte, y CA100 por otra?; es decir, ¿por qué los animales alimentados con las dietas S y G ingieren mayor cantidad de energía digestible y aquellos a los que se les suministra la dieta CA100 lo hacen en menor proporción?. Si analizamos los valores de energía metabolizable ingerida (Tabla 4.26) de las distintas dietas, encontramos algo parecido a lo descrito para la ingesta de energía digestible; sin

embargo, cuando observamos los índices que nos informan acerca de la utilización de esa energía metabolizable (ER%EMI, Tabla 4.26), y que discutiremos en profundidad posteriormente, percibimos que, a nivel metabólico, las dietas peor utilizadas son precisamente las formuladas con soja y girasol, mientras que la mejor utilizada es la dieta CA100. Por consiguiente, el calor desprendido por Kg de dieta (EC/Kg dieta), es superior para los animales alimentados con las dietas G y S e inferior con la CA100 (Fig. 5.4). Es decir, nuestros resultados nos permiten emitir la hipótesis de que los animales no solo regulan la ingesta de alimento en base a la energía digestible del mismo, sino que también lo hacen en función de la calidad de la energía disponible para el animal. Apoyando en parte esta hipótesis, Lee y Putnam (1973) encontraron, en la trucha arco iris, una relación entre la dieta ingerida y la proporción de energía digestible/proteína en la misma.

Los mecanismos implicados en el control de la ingesta en los peces no están claros (Cuenca y García-Gallego, 1987), aunque existen indicios de que éstos podrían extrapolarse de los conocidos en mamíferos. En estos últimos, numerosos trabajos han puesto de manifiesto que, dentro del complejo multifactorial implicado en la regulación del apetito, los niveles circulantes de determinados metabolitos y, en estrecha relación con ellos, los de algunas hormonas, indicadores del estado nutricional o de la magnitud de sus reservas energéticas, parecen jugar un papel fundamental. La regulación del nivel de ingesta constituye un proceso fisiológico homeostático que, como cualquier otro, debe tener un objetivo, y éste debe ser el de un suministro de materiales nutritivo-energéticos en una cantidad y calidad adecuadas para abastecer las necesidades de las células de los distintos tejidos del organismo y, por tanto, es lógico pensar que sea precisamente la disponibilidad en la calidad y cantidad de alimento lo que constituya el principal estímulo para el mecanismo de control homeostático; es decir, la cantidad y calidad de la energía metabolizable del alimento condicionaría de algún modo el consumo del mismo.

Por lo que se refiere al crecimiento neto de los animales (Tabla 4.19), podríamos decir que la dieta mejor ha sido la formulada con altramuces seguida de la que incorpora soja, ya que han promovido un mayor crecimiento en los animales, siendo

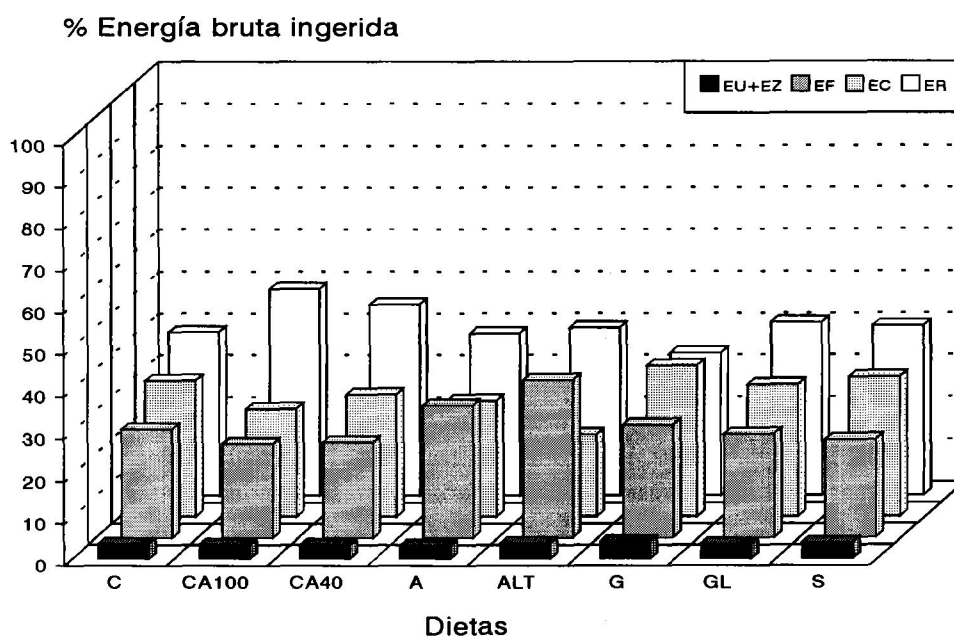


Fig. 5.4. Retención energética y destino de las pérdidas de energía a partir de la energía bruta de las distintas dietas. (Cada valor representa la media de los tres lotes experimentales).

el resto de las mismas de una calidad semejante a la de la dieta control. Por otra parte, los índices biométricos de nutrición (Tabla 4.20) nos revelan que la "forma" de crecimiento, en los distintos lotes experimentales, ha sido semejante. Sin embargo, cuando analizamos los índices de conversión o eficacia del alimento para producir crecimiento (IC y EBI/incremento de peso, Tablas 4.19 y 4.26, respectivamente), y que tienen un especial interés para el piscicultor, las dietas que promovían mayor crecimiento presentaron peores índices; si bien hemos de decir que los valores obtenidos para todas ellas se encuentran muy por encima de los que se suelen obtener en piscifactoría, debido a que las condiciones ambientales de laboratorio son distintas. Así pues, el rendimiento de las dietas formuladas con las materias primas vegetales, en cuanto a promover crecimiento, fue inferior al de la dieta control, excepto el de la dieta que incorporaba gluten de maíz. La dieta CA100 fue la que presentó los valores más favorables para estos índices.

Encontramos, por tanto, que los IC presentados por las distintas dietas se encuentran en relación inversa con la cantidad de alimento ingerido ($r = - 0.933$, $p < 0.005$; Fig. 4.4). Se sabe que la eficiencia del alimento para promover crecimiento está inversamente relacionada con el nivel de ingesta (De Silva y Balbontin, 1974); en nuestras circunstancias, los animales han sido alimentados hasta saciedad y las diferencias en la ingesta, como hemos comentado anteriormente, estarían principalmente motivadas por las peculiaridades energéticas de cada dieta; son entonces esas peculiaridades energéticas (calidad y cantidad de ED y EM), en definitiva, las que han debido promover las diferencias en la eficacia del alimento para producir crecimiento y retención de energía.

B. UTILIZACION DIGESTIVA

Por lo que respecta al uso digestivo de la energía bruta de las distintas dietas, expresado mediante el CDA de la energía y la ED/Kg dieta (Tabla 4.26), los resultados manifiestan que las dietas mejor utilizadas, a nivel digestivo, han sido las formuladas con caseína (CA100 y CA40), harina de soja y gluten de maíz, que presentaron valores superiores al de la dieta control. El CDA de la energía de la dieta con girasol es semejante al de la control y, por último, la dieta que incorpora algodón y, sobre todo, la que contiene altramuz son las que presentaron los valores de ED inferiores.

Los resultados obtenidos (Tabla 4.22) para el CDA de la materia orgánica y de la dieta en su conjunto (CDA MS), corroboran los obtenidos para el CDA de la energía. Las diferencias en la ED de las distintas dietas se puede explicar en función de la utilización digestiva de los macronutrientes constitutivos de cada una de ellas.

El Coeficiente de Digestibilidad Aparente y Verdadero de la proteína (Tablas 4.15 y 4.22) así como el CDA de la grasa y de los hidratos de carbono (Tabla 4.22), de las dietas formuladas con caseína, fueron los mayores. Es sabido la buena digestibilidad de la caseína en los peces (Dupree y Sneed, 1966; Ogino y Chen, 1973a; Cowey *et al.*, 1974; Asgard y Austreng, 1985b; Eid y Matty, 1989). Asimismo, la grasa y los hidratos de carbono añadidos a la dieta CA100 fueron aceite de maíz y de

pescado y almidón pregelatinizado respectivamente, macronutrientes altamente digestibles. Por consiguiente, es lógico que la energía de las dietas CA100 y CA40 fuera la mejor usada a nivel digestivo.

Por lo que se refiere a la dieta formulada con gluten de maíz, encontramos que la digestibilidad de la proteína de la dieta y, por tanto, la de la propia fuente (Tablas 4.22 y 4.23) fue superior a la de la dieta control. Varios autores han manifestado el buen uso digestivo de esta proteína en varias especies de peces (Hasting, 1966; Ogino y Chen, 1973a; Cho *et al.*, 1982; Moyano, 1990). Por otra parte, dada la poca cantidad de grasa y de hidratos de carbono que contiene la harina de gluten de maíz (Tabla 3.1), al igual que las dietas CA100 y CA40, la mayor parte de estos principios inmediatos fueron añadidos de forma purificada. Todo esto explica el buen uso digestivo del conjunto de la dieta formulada con harina de gluten de maíz.

La dieta que incluía harina de soja fue también, como hemos comentado anteriormente, de las que presentó una mejor utilización digestiva, ello se explicaría en función del Coeficiente de Digestibilidad de la proteína de soja utilizada en nuestros ensayos (Tabla 4.23) que presentó valores superiores a los de la proteína de harina de pescado. Cho *et al.* (1982) y Pfeffer (1982), entre otros investigadores, han observado el buen uso digestivo de la proteína de harina de soja tratada para alimentación animal. Asimismo, la digestibilidad de la grasa de esta dieta fue superior a la de la dieta control. Ambas circunstancias contrarrestan la peor utilización del componente hidrocarbonado contenido en la harina de soja (Becker y Nehring, 1965; Scerbina, 1973; Arnensen *et al.*, 1989).

La harina de girasol, incluida en la dieta G, determinó una utilización digestiva de la energía semejante a la de la harina de pescado. Ello se debe a que, si bien el Coeficiente de Digestibilidad de la proteína es superior, así como el de la grasa (Tabla 4.22), la utilización a nivel digestivo de los hidratos de carbono fue peor. Bondi y Spandford (1953), en un trabajo realizado en carpas, encontraron una digestibilidad muy baja de los hidratos de carbono del girasol.

Todas las materias primas, excepto la harina de algodón, tuvieron una mejor utilización de su proteína y de su escasa proporción de grasa que la proteína y grasa de la harina de pescado utilizada en estos ensayos. Las harinas de pescado utilizadas en nuestro laboratorio vienen presentando Coeficientes de Digestibilidad variables, siendo, precisamente, la utilizada en este ensayo la que menor Coeficiente de Digestibilidad de la proteína ha presentado. Ogino y Chen (1973b) y Pike *et al.* (1990), entre otros, manifiestan que la digestibilidad de la harina de pescado depende de su procesado y origen, circunstancias por otra parte lógicas. Asimismo, la digestibilidad de la grasa de la dieta de harina de pescado (C) fue inferior a la del resto de las dietas. Debido a que el mayor aporte graso procede de la harina de pescado, y no de aceites puros, se podría pensar que esa menor digestibilidad de la grasa fuese debida, precisamente, a la peor utilización digestiva de los lípidos estructurales frente a una grasa de antemano aislada. Por otra parte, se sabe que el nivel de ácidos grasos oxidados condiciona la digestibilidad de la grasa (Opstvedt, 1974), hecho que vendría acompañado de una reducción en el nivel de utilización digestiva de la proteína (Roubal y Tappel, 1966; Njaa *et al.*, 1966). Pero estas circunstancias no han debido ser responsables de la menor digestibilidad de la proteína y de la grasa de la harina de pescado, ya que la determinación previa del índice de peróxidos en dicha harina, reveló valores que se encontraban dentro de la normalidad (1 mEq de oxígeno/Kg de grasa).

Por lo que respecta a la dieta formulada con harina de algodón, ésta presentó una peor utilización digestiva de la proteína y de los hidratos de carbono que la dieta control, circunstancias que motivaron que, aunque el componente graso fue mejor digerido, la utilización digestiva global de la dieta con harina de algodón fuera inferior. Hasting (1966) y Reigh *et al.* (1990) encontraron una utilización de la harina de algodón que apoya nuestros resultados. Debido a que, de todas las materias primas ensayadas, la harina de algodón fue la que presentó la peor calidad digestiva, la utilizamos en un ensayo posterior destinado a tratar de aumentar dicha utilización digestiva mediante la adición de un preparado multienzimático comercial (KEMZYME).

Finalmente, la dieta con harina de altramuz fue la que motivó una peor utilización digestiva de la energía, en su conjunto, hecho que se debe a la presencia de

hidratos de carbono muy poco digestibles (Nehring, 1965). La proteína de esta materia prima presentó una buena utilización digestiva, en línea con lo encontrado por otros investigadores (De la Higuera *et al.*, 1988; Hughes, 1988, 1991; Moyano *et al.*, 1992).

Como se puede deducir, han sido los hidratos de carbono existentes en las materias primas vegetales los que, fundamentalmente, han condicionado su peor uso digestivo (Tabla 4.23). De hecho, encontramos una correlación estadísticamente significativa entre la energía digestible (CDA E) y el Coeficiente de Digestibilidad de los hidratos de carbono de las distintas dietas ($r = 0.926$, $p < 0.001$; Fig. 4.5). En esta misma línea, Gomes y Kaushik (1989) observaron una disminución en la energía digestible de las dietas a medida que aumentaba el nivel de inclusión de materias primas vegetales, y Anderson *et al.* (1991) encontraron que la energía digestible de distintas materias primas disminuye conforme aumenta su contenido en fibra.

La diferente utilización digestiva de las dietas motivó, como hemos comentado anteriormente, el que los animales modificaran su ingesta, de tal forma que la energía digestible ingerida, en la mayoría de las dietas, fue igual a la de la dieta control (Tabla 4.26). Como excepciones, las dietas S y G presentaron valores superiores y la CA100 inferiores.

Para tratar de explicar el uso que de la energía digestible de las distintas dietas realizaron los animales, comenzaremos estudiando los resultados obtenidos en los valores de energía metabolizable.

C. UTILIZACION METABOLICA

La pérdida de material combustible en las heces, depende de la susceptibilidad de los componentes del alimento a los procesos de digestión y absorción en el tracto digestivo del pez, existiendo pocas interacciones entre los ingredientes alimentarios de una dieta que puedan influir sobre su digestibilidad (Cho, 1987). Así pues, la energía digestible de una materia prima o de uno de sus nutrientes, sería relativamente independiente de la composición de la dieta en que se incluye.

En contraste, la energía metabolizable de la dieta, y el uso que el animal hace de ella, depende de su energía digestible, del Valor Biológico de la proteína y de la proporción de los diferentes nutrientes (Elliott, 1976; Cho, 1987). Así pues, el valor de la energía metabolizable de una dieta, está íntimamente relacionado con su composición, dado que es el equilibrio global de los aminoácidos y energía de la dieta el que influye sobre la retención de proteínas por el organismo y, por tanto, el que gobierna la pérdida de productos nitrogenados. Nosotros encontramos una relación entre la ED y la EM de las distintas dietas con un coeficiente de correlación muy alto ($r = 0.998$; Fig. 4.6), así como entre la EM y el Valor Biológico de la proteína (Fig. 4.7), si bien esta última presentó un peor coeficiente de correlación ($r = - 0.738$), aunque significativo ($p < 0.05$). Debido a esta circunstancia, y a que la proporción entre los distintos macronutrientes existentes en las dietas era la misma, podemos decir que las diferencias en la energía metabolizable de las distintas dietas vendrían en gran modo condicionadas por las existentes en la energía digestible.

Los resultados obtenidos en el Valor Biológico de la proteína de las dietas (Tabla 4.25) nos indican que, así como a nivel digestivo la utilización de la proteína de las materias primas ensayadas, excepto la de algodón, fue mejor que la de la proteína de la dieta control, a nivel metabólico los resultados fueron diferentes; así, la proteína de las dietas con algodón (A) y caseína (CA40 y CA100) fue mejor que la control; semejante a éstas la de las dietas con gluten de maíz (GL) y altramuz (ALT) y, por último, la proteína de las dietas con harina de girasol (G) y harina de soja (S) presentó una utilización inferior.

Los resultados obtenidos para el Coeficiente de Digestibilidad (Tabla 4.22) y Valor Biológico (Tabla 4.25) de la proteína de las distintas dietas, explican aquellos obtenidos para el Valor Productivo de la proteína (VPP; Tabla 4.25).

La buena utilización digestiva y metabólica, de la proteína de las dietas con caseína y con gluten de maíz, promovió un VPP superior al de la dieta control.

La proteína de la dieta con harina de altramuz presentó una utilización a nivel

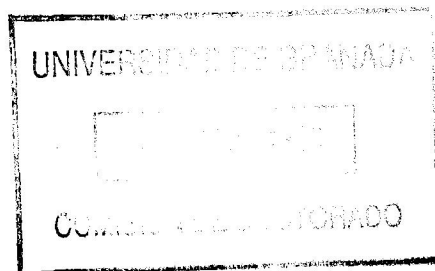
digestivo y metabólico muy parecida a la de la dieta control, por lo que el VPP es semejante en ambas.

La proteína de la dieta que incorporaba harina de algodón fue muy bien utilizada a nivel metabólico, de tal forma que compensó la mala utilización a nivel digestivo, con lo que el VPP de esa dieta fue semejante al de la control.

En la dieta fabricada con harina de soja ocurre el proceso inverso, es decir, la mejor utilización digestiva contrarrestó la peor utilización metabólica, hecho que no ocurrió con la proteína de la dieta que incorporaba harina de girasol que, pese a su mejor utilización digestiva, manifestó un valor de VPP inferior al de la dieta control.

Por lo que respecta a los valores obtenidos en el Coeficiente de Eficacia en Crecimiento (CEC; Tabla 4.25) hemos de decir que, en general, apoyan los comentados anteriormente para el VPP debido, entre otras circunstancias, a que no existieron grandes diferencias en la composición corporal de proteína, grasa, humedad y energía en los distintos lotes de animales (Tabla 4.24). Concretamente, para la composición en proteína todos los valores son semejantes entre sí. Por lo que respecta al contenido en grasa y en energía, sólo los animales alimentados con las dietas que contenían soja y altramuz presentaron un mayor porcentaje que los animales control.

Al relacionar el contenido en grasa y agua corporales, encontramos lo ya expuesto por numerosos investigadores (Ionas, 1974; Niimi y Beamish, 1974; Stirling, 1976) acerca de una correlación inversa entre ambas variables ($r = -0.841$, $p < 0.01$; Fig. 4.8). Asimismo, encontramos una relación inversa entre el contenido graso y proteico corporal ($r = -0.889$, $p < 0.005$; Fig. 4.9), hecho ya observado por otros autores (Cardenete, 1985), que a su vez se relacionan con el peso corporal en el sentido de que, como es sabido (Weatherley y Gill, 1983), a medida que aumenta el peso del animal disminuye la proporción relativa del contenido en proteína corporal y aumenta la de grasa. En nuestro caso, y de acuerdo con lo anterior, encontramos una correlación positiva entre las variables peso corporal y contenido graso ($r = 0.923$, $p < 0.001$; Fig. 4.10).



Una vez que se ha comentado la utilización de la proteína de las distintas dietas, hemos de decir que todas las fuentes proteicas ensayadas son adecuadas para sustituir a la proteína de harina de pescado en un 40%. La relación EM/ED para todas ellas fue mayor que los valores proporcionados para salmónidos por NRC (1981), para diferentes dietas fabricadas con distintas materias primas. Hay otros trabajos que apoyan nuestros resultados, en cuanto a la buena utilización de la proteína de la harina de altramuz Moyano *et al.* (1991, 1992), gluten de maíz (Ketola, 1982; Alexis *et al.*, 1985; Boccignone *et al.*, 1989, Moyano *et al.*, 1991), caseína (Ogino y Chen, 1973b; Asgard y Austreng, 1985b; Eid y Matty, 1989) y soja (Murai, 1992).

Por el contrario, las investigaciones realizadas con harina de girasol son escasas. Tacon *et al.* (1984) y Martinez (1986) observaron que, a bajos niveles de inclusión, puede ser efectiva en dietas para truchas. Al nivel de sustitución ensayado por nosotros, comienza a manifestarse una peor calidad a nivel metabólico. Si tenemos en cuenta la composición en aminoácidos de la dieta formulada con dicha materia prima (Tabla 3.11) encontramos niveles de metionina y lisina, inferiores a los de la dieta control, al igual que para la dieta formulada con harina de soja, aunque en ambos casos cubren las necesidades. Tacon *et al.* (1984) no consiguieron mejorar la utilización de la proteína de harina de girasol por adición de L-metionina. La peor utilización metabólica, en nuestro caso, podría deberse, más que a deficiencias, a un desbalance entre leucina e isoleucina, presente en la harina de girasol utilizada en estos ensayos y en la empleada por Tacon *et al.* (1984). Chance *et al.* (1964), Harper *et al.* (1970), Hughes y Rumsey (1983) y Robinson *et al.* (1984c) han puesto de manifiesto el efecto negativo, sobre el crecimiento e Índice de Nutrición, del desbalance entre leucina e isoleucina en dietas para salmónidos. Junto con esta hipótesis, tampoco habría que descartar el hecho de que la menor digestibilidad de los hidratos de carbono haya motivado una menor disponibilidad de los mismos a nivel metabólico y, por consiguiente, un mayor uso de la proteína con fines energéticos en detrimento de su uso para crecimiento. Para verificar dichas hipótesis, la harina de girasol se utilizó en ensayos posteriores mediante la formulación de tres dietas: una control fabricada con harina de pescado como fuente proteica, y dos dietas formuladas con harina de girasol en las que la proteína de dicha fuente sustituyó en un 40% a la proteína de harina de pescado, igual que en este

ensayo, pero con la diferencia de que las dietas se formularon atendiendo a que la energía digestible de las mismas fuera aportada en igual proporción por los distintos macronutrientes (grasa, hidratos de carbono y proteína). Asimismo, a una de las dietas con girasol se le adicionaron aminoácidos con el criterio de igualar el nivel de aminoácidos digestibles con el de la dieta control. Resultados que se discutirán en el apartado 5.10 de este capítulo de Discusión.

Por último, la harina de algodón, al nivel de sustitución ensayado (40% de la proteína), ha mostrado que, pese a ser peor utilizada a nivel digestivo, como hemos comentado anteriormente, debido a la buena utilización de la proteína a nivel metabólico, junto con el relativamente mejor uso de los carbohidratos contenidos en ella, promueve unos resultados semejantes a los de la dieta control. Los datos existentes en bibliografía acerca de la utilización de la proteína de la harina de algodón no son muy concordantes, sobre todo en lo que respecta a la acción del gossipol presente en ella. Concretamente, Herman (1970) encontró poco crecimiento en la trucha con unos niveles dietarios de gossipol de 0.03%, inferiores a los utilizados por nosotros (0.05%). Fowler (1980) encontró que la harina de algodón era usada eficientemente como sustitutivo parcial (34.1%) de la harina de pescado en la dieta para el salmón chinook y, sin embargo, no fue así para el salmón coho. Asimismo, los datos también parecen contradictorios cuando se observan los resultados obtenidos en otras especies de peces. El-Sayed (1990) no encuentra efecto tóxico en tilapias alimentadas con dietas en las que la harina de algodón sustituía el 100% de la proteína de harina de pescado. Por otra parte, Robinson *et al.* (1984b) encontraron, para esta misma especie, que puede añadirse hasta un 0.2% de gossipol libre a la dieta, y que el menor crecimiento de los animales podría deberse a la presencia de ácidos ciclopropenoides en la semilla de algodón, y no al contenido en gossipol libre. Dorsa *et al.* (1982) encontraron que el crecimiento del bagre se inhibía con dietas conteniendo harina de algodón, hecho que lo atribuían al gossipol contenido en dicha materia prima, ya que, adicionando 0.09% del mismo en forma libre a la dieta, observaban un efecto similar; sin embargo, Robinson y Daniels (1987) manifestaron que la harina de algodón puede ser una adecuada fuente de proteína en el bagre cuando ésta es usada a niveles de inclusión no muy elevados (12-15% de la dieta). En el mismo sentido, Barros (1992) indicó que la

harina de algodón es una adecuada fuente de proteína, en dietas para carpa, cuando su proteína sustituye un 24% de la proteína de la dieta.

A partir de la energía metabolizable presente en el alimento, existe una fracción que no puede ser usada para aumento de la energía corporal (retención energética). Esta fracción que se libera en forma de calor, como consecuencia de la transformación de los sustratos de la dieta en componentes tisulares, del reciclamiento de los propios tejidos y de la actividad física, va a determinar la calidad de la energía metabolizable. Es decir, la calidad de la energía metabolizable será mayor cuanto mayor sea la proporción retenida en el animal (ER%EM). Existe una parte del calor liberado que, en nuestras condiciones experimentales, era de esperar que fuera igual para todos los animales, ésta es la proveniente del metabolismo basal y de la actividad física. El hecho de que la energía retenida (respecto a la energía metabolizable ingerida) sea distinta, se debería a la fracción correspondiente al incremento calórico de la alimentación (ICA), es decir, a la formación y excreción de desechos metabólicos, a la transformación e interconversión de los sustratos y su retención en los tejidos y a los procesos de digestión y absorción. Lo principal parece ser la desaminación de aminoácidos ingeridos y excretados y la síntesis de proteína y grasa tisulares a partir de los sustratos recién absorbidos, tales como aminoácidos o ácidos grasos (Cho, 1987). Asimismo, el incremento calórico de la alimentación depende, en gran medida, del equilibrio de los nutrientes en la dieta y del nivel de ingesta (Brody, 1945) y pensamos que, principalmente, ha sido esta circunstancia la que básicamente ha motivado las diferencias en la utilización de la energía para crecimiento.

En primer lugar, hemos de decir que cuando expresamos la energía retenida en función de la energía bruta ingerida (ER%EI, Tabla 4.26) no aparecieron diferencias entre las dietas con respecto a la control, excepto para la dieta con girasol, donde la retención fue menor, y para las dietas que incorporaban caseína, con una retención energética mayor. Nos encontramos que los resultados obtenidos en la eficacia de la energía del alimento para ser retenida no son exactamente iguales a los ya anteriormente comentados para el IC o la EBI/Incremento peso. El IC, o ganancia de peso por unidad de alimento ingerido, utilizado para evaluar la productividad de una dieta, no es una

medida adecuada de la eficacia energética de la dieta para ser retenida por el animal, debido a que, dado que el crecimiento lleva implícito depósito de grasa, ésta reduce el contenido de agua del cuerpo, cambiando así el valor energético por unidad de peso del animal vivo y, además, el valor calórico, por unidad de peso, de grasa y proteína son diferentes.

Concretamente, todas las dietas fabricadas con materias primas vegetales, excepto la dieta con gluten de maíz, presentaron IC inferiores al de la control (Tabla 4.19); sin embargo, la energía retenida, en función de la bruta ingerida, para la mayoría de lotes de animales, es muy semejante a la de la dieta C, debido al valor calórico de los tejidos que ha aumentado en mayor proporción que el crecimiento y, con ello, la eficacia de la dieta para promover retención energética (Fig. 5.4).

Cuando se expresa la retención energética, en función de la energía digestible (ER%EDI) y en función de la metabolizable (ER%EMI), encontramos que, mientras que la dieta formulada con girasol sigue presentando una menor retención, la dieta formulada con altramuz se reveló como la mas eficiente, a nivel de retención energética, junto con la dieta CA100.

La menor eficiencia de retención calórica, a partir de la energía metabolizable, de la dieta con harina de girasol se debería, principalmente, a la ya comentada peor calidad de la proteína y a su mayor destino energético y gluconeogénico, motivada esta última circunstancia por una menor disponibilidad de hidratos de carbono, siendo la relación PR/EM para esta dieta la que ha presentado los valores más bajos con respecto al resto de las dietas ensayadas (Tabla 4.28).

Por lo que respecta a la dieta con harina de altramuz, nos encontramos con unos resultados difíciles de explicar. En principio, podríamos descartar una posible influencia negativa de la calidad de la proteína de la dieta ALT, si nos basamos en su contenido en aminoácidos, ya que, si bien presenta deficiencias en el aminoácido Met (1.45 mg/100 mg de proteína) cuando se consideran las necesidades recomendadas por NRC (1991), Kim *et al.* (1992a) encuentran unas necesidades inferiores (1.49% de la proteína

dietaria), e indican que las necesidades de aminoácidos azufrados, cuando Met+Cys presentan valores del 2.3% de la proteína de la dieta, quedan cubiertas; aunque en nuestro análisis no se ha podido determinar el contenido de Cys, este aminoácido suele presentar unos valores, en la proteína de harina de altramuz y de harina de pescado (Moyano *et al.*, 1992), que, sumados a los de Met, cubren las necesidades recomendadas. Así pues, el hecho de la existencia de un patrón aminoacídico correcto en la dieta ALT, explicaría su buena utilización metabólica. Pero existen otras circunstancias en esta dieta que, como hemos comentado anteriormente, contradicen el buen uso de su energía metabolizable. Concretamente, debido al mal uso digestivo del componente hidrocarbonado de la harina de altramuz, los animales, para compensar el déficit en energía digestible (MJ/Kg) de la dieta, incrementan la ingesta de energía bruta; ambas circunstancias han motivado que la relación PD/ED de la dieta (Tabla 4.28; Fig. 5.5) tenga un valor superior (28 g/MJ) al presentado por el resto de las dietas, y ello, según Cho (1987), disminuye la eficiencia de utilización energética de la dieta. Según este autor, las dietas para salmónidos no deberían contener más de 25 g PD/MJ ED, debido a que se originan unas mayores pérdidas extrafecales de nitrógeno y un aumento del ICA. A su vez, en nuestras circunstancias, debido a que los animales han ingerido mayor cantidad de alimento, ello podría suponer un esfuerzo "extra" que motivaría una mayor pérdida de energía en forma de calor. Pues bien, los cálculos indirectos realizados no indican ni mayor liberación de calor ni mayores pérdidas de nitrógeno metabólico (Tabla 4.27; Fig. 5.4), por el contrario, si comparamos con el resto de las dietas, los valores son inferiores.

El altramuz ha demostrado su total equivalencia con la soja en la alimentación de monogástricos terrestres (Viñaras *et al.*, 1987). En el caso de los peces, algunos autores (Hugues *et al.*, 1984; Viola *et al.*, 1989; Moyano, 1990) han encontrado unos resultados sorprendentemente positivos. Mientras que Viola *et al.* (1989) reconocen no encontrar una explicación a la mejor utilización de la harina de altramuz, Moyano (1990) coincide con la hipótesis emitida por Hughes *et al.* (1984) acerca de que la trucha podría utilizar eficientemente el aminoácido glutámico, contenido en altas proporciones en esta materia prima (20-25% de la proteína), como fuente de aminoácidos no esenciales. Además, se ha observado, en la rata, un efecto modulador

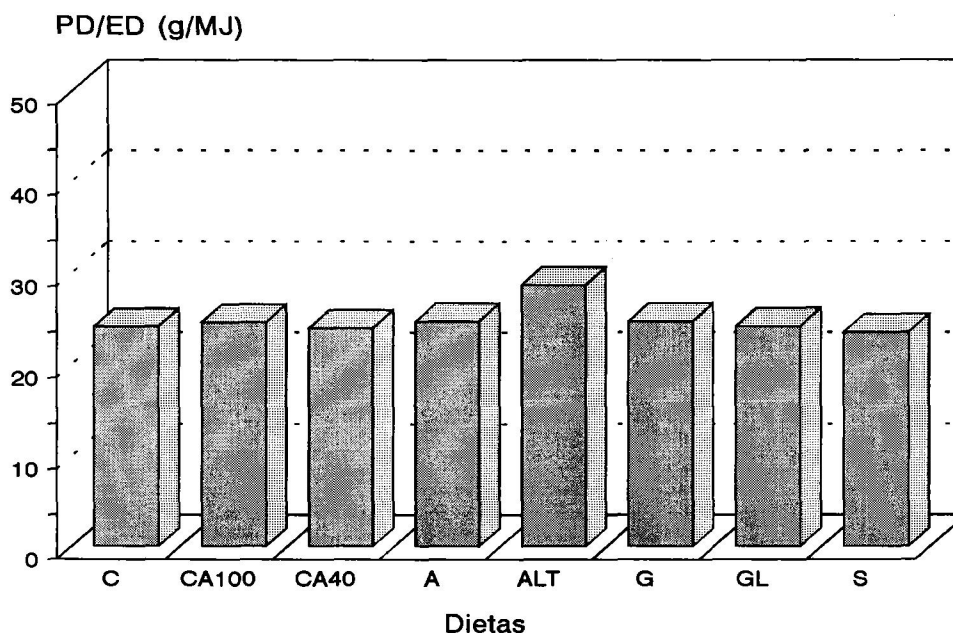


Fig. 5.5. Relación PD/ED en las distintas dietas experimentales. (Cada valor corresponde a la media de los tres lotes experimentales).

de la glutamina en virtud del cual el aumento de las concentraciones de glutamina favorece la síntesis proteica (Jepson *et al.*, 1988).

Se sabe que una gran parte de la proteína dietaria es utilizada por los peces con fines energéticos, según esto, se podría hablar de una cierta predisposición a emplear las cadenas carbonadas de los aminoácidos como sustrato energético. Los pasos finales de la degradación del esqueleto carbonado de un aminoácido están conectados con el ciclo TCA (Walton, 1985), y sólo tres parejas amino-cetoácido están implicadas en dicha conexión: alanina-piruvato, glutamato-cetoglutarato y aspartato-oxalacetato. De esta forma, tales aminoácidos podrían constituir una necesidad específica de esqueletos carbonados. De hecho, algunos trabajos apuntan hacia la posibilidad de emplear aminoácidos no esenciales, en la dieta de la trucha, como sustitutivos parciales de la proteína: la alanina (Smith y Harper, 1983), el glutámico (Hughes, 1985) y una mezcla de glutamato, aspartato y serina (Walton *et al.*, 1986).

De tal forma que, la existencia, en la proteína dietaria, de una elevada proporción de glutámico, podría representar un ahorro importante en la síntesis de aminoácidos no esenciales a partir de los esenciales, y podría explicar el hecho de que un alto contenido del mismo en la proteína no repercute negativamente en cuanto a despilfarro energético, utilizándose el glutámico para síntesis de ácidos grasos y para engorde.

Sin embargo, Moyano *et al.* (1991), no encontraron una mayor actividad de la GDH, indicativa de una mayor desaminación, al alimentar truchas con dietas que incluían altramuz. En futuras investigaciones, sería interesante profundizar en los estudios que nos lleven a conocer el destino del componente nitrogenado de este aminoácido.

Por último, en el caso de ser cierta la hipótesis acerca de las repercusiones positivas de la presencia del aminoácido glutámico en altas proporciones en la dieta, podría ayudar a explicar los buenos resultados obtenidos en la utilización metabólica de la proteína de las dietas que incluían harina de algodón, gluten de maíz y caseína, materias primas que también contienen altas proporciones de este aminoácido en su proteína.

En la Figura 5.4 se representa el destino de la energía de las distintas dietas experimentales (expresado en función de la EBI). Todos los componentes energéticos de una dieta son fuentes potenciales de energía; para los salmónidos, los lípidos y las proteínas constituyen las fuentes principales de energía dietaria, por lo que existe una competencia entre su destino estructural y la necesidad de energía para mantenimiento, alimentación etc, que se obtiene de su catabolismo. En cuanto a los hidratos de carbono, existen controversias acerca de las consecuencias nutritivo energéticas de su incorporación en dietas para peces carnívoros.

La pérdida fecal de energía es la más importante de las que sufre la energía bruta ingerida. En nuestras circunstancias, han sido las dietas fabricadas con harina de algodón y, sobre todo, con altramuz las que han promovido mayores pérdidas fecales

(31.25% y 37.26%, respectivamente) procedentes, principalmente, del componente hidrocarbonado, aunque, no obstante, al comparar estas pérdidas con las que se suelen producir con dietas comerciales para peces (28 - 48% de la EB, según Cho, 1987) se puede observar que se encuentran próximas a los valores más bajos del rango establecido (Tabla 4.27).

En peces carnívoros, las pérdidas metabólicas nitrogenadas representan aproximadamente el 7% de la energía total consumida (Brett y Groves, 1979), aunque, lógicamente, estas pérdidas dependen de varios factores, siendo los más importantes la calidad y cantidad de alimento. La eliminación energética nitrogenada, correspondiente a los animales alimentados con las distintas dietas experimentales, no llegó al 4% de la EBI, excepto para la dieta fabricada con harina de girasol, debido, probablemente, a la inferior calidad proteica de esta harina, según se ha comentado.

La energía metabolizable ingerida con un alimento, que no es disipada como calor, es retenida en el cuerpo en forma de nuevos elementos tisulares. Los valores en el calor desprendido y energía retenida, con respecto a la energía bruta ingerida, obtenidos en los animales alimentados con las distintas dietas experimentales, están de acuerdo con los indicados por Cho *et al.* (1982). En los animales en crecimiento, parte de la energía retenida es almacenada como proteína y parte como grasa; la importancia relativa de los depósitos proteico y graso depende de un gran número de factores, entre los que habría que destacar la calidad de la proteína dietaria y la magnitud en que la energía dietaria ingerida excede a la disipada como calor. A medida que aumenta el peso corporal, el nivel total de proteína almacenada aumenta, pero la proporción de energía retenida como grasa lo hace a un ritmo aún mayor, por ello, los animales alimentados con las dietas ALT y S, que son los que más han crecido, han sido los que han retenido mayor porcentaje de energía en forma de grasa.

La utilización de la proteína de las distintas dietas, formuladas con diferentes materias primas vegetales sustituyendo en un 40% a la harina de pescado, es semejante a la de la dieta control, excepto para la harina de girasol. Por otra parte, la dieta formulada con caseína como única fuente de proteína presentó un rendimiento

energético superior a la dieta con harina de pescado.

Para finalizar la discusión de este bloque de ensayos diremos que, a pesar de que todas las dietas eran isocalóricas en energía bruta, la principal circunstancia que ha condicionado el rendimiento o eficacia de las dietas para promover crecimiento ha sido las variaciones en la energía digestible de las mismas. La principal circunstancia que ha motivado las diferencias en la energía digestible ha sido la cantidad de hidratos de carbono poco digestibles, procedentes de las materias primas vegetales. En la evaluación o estimación de la necesidades de energía para la producción de peces, en este caso truchas, más importante que la energía bruta de la dieta es la energía digestible, conclusión a la que también han llegado otros investigadores (Gomes y Kaushik, 1989; Kim, 1989).

De lo anterior podría deducirse que, la eficacia en la utilización nutritiva de dietas que incorporen las materias primas vegetales evaluadas se podría mejorar proporcionando un mayor nivel de energía digestible. En nuestro caso, adicionando una mayor proporción de hidratos de carbono o a través de procesos tecnológicos que mejoren la utilización de aquellos presentes en dichas materias primas. Esta segunda opción sería de mayor interés, al suponer una reducción en la eliminación de desechos polucionantes al medio, con todas las ventajas que ello conlleva.

El efecto beneficioso de la adición de hidratos de carbono en las dietas para peces carnívoros, como ya hemos comentado anteriormente, constituye un aspecto controvertido. Los diversos trabajos al respecto parecen poner de manifiesto una cierta capacidad, por parte de los salmónidos, para utilizar niveles moderados de glúcidos con mejoras en el crecimiento y utilización de la proteína (Watanabe *et al.*, 1979; Cho y Kaushik, 1985; Kim y Kaushik, 1992). Asimismo, la utilización de procesos tecnológicos, que mejoren la utilización digestiva de los hidratos de carbono complejos, se ha revelado eficaz para promover una mayor retención energética, junto con un ahorro de la proteína (Luquet y Bergot, 1976; Bergot y Bréque, 1983; Kaushik *et al.*, 1989). Steffens (1987) recoge datos según los cuales la cifra de almidón digestible no debe superar el 15 - 20% de un pienso compuesto para trucha, proporción que hay que

tener en cuenta pues supone, junto con los niveles de grasa, una importante fracción de la energía dietaria no proteica que puede ser utilizada con fines energéticos.

La valoración de una materia prima como fuente de proteína debe incluir no solo la investigación acerca de la calidad proteica, sino también la del resto de los macro y micronutrientes existentes en ella, ya que de su utilización va a depender el uso que el animal haga de la proteína.

Asegurando las necesidades mínimas de proteína dietaria para crecimiento óptimo, cualquier rebaja en la relación P/E resultaría favorable desde el punto de vista de la producción, al considerarse el componente proteico como el más costoso de entre los implicados en la fabricación de un pienso. Además del efecto positivo que, sobre el medio ambiente, tendría la reducción de la eliminación de residuos nitrogenados contaminantes, especialmente los procedentes de harina de pescado, al sumársele la eliminación de fósforo.

5.8. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN COMPLEJO MULTIENZIMATICO COMERCIAL (KEMZYME) SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVA DE LA DIETA

En el apartado 5.7 de esta Discusión se concluye que, de todas las fuentes proteicas vegetales, ha sido la proteína correspondiente a la de harina de algodón la que ha presentado una menor utilización digestiva; sin embargo, su utilización metabólica se ha revelado como positiva. En consecuencia, el intentar mejorar su utilización digestiva repercutiría favorablemente sobre el uso global del componente proteico y, por consiguiente, de la energía dietaria.

La suplementación enzimática, aplicada a ensayos de nutrición de peces, se ha limitado, casi exclusivamente, a dietas para larvas (Dabrowska *et al.*, 1979; Uys *et al.*, 1987; Munilla-Morán *et al.*, 1990; Kolkovski *et al.*, 1991; Koven *et al.*, 1991), proporcionando buenos resultados. Por el contrario, los pocos trabajos existentes en los peces en fase de crecimiento, indican que dicha suplementación no ejerce efectos positivos sobre el crecimiento e índices de utilización del alimento en los animales (Reinitz, 1983; Carter *et al.*, 1992). Concretamente Reinitz (1983) utiliza un preparado comercial de proteasas en la trucha arco iris y Carter *et al.* (1992) una amilasa comercial en el salmón del Atlántico.

En nuestro ensayo, se ha utilizado un preparado multienzimático comercial (KEMZYME) que comprende prácticamente la totalidad de las enzimas digestivas (celulasas, hemicelulasas, pentosanasas, β -glucanasas, proteasas, lipasas, amilasas). Dicho preparado ha mostrado buenos resultados en aves y mamíferos (Adams, 1989; Castanón y Marquardt, 1989; Inboor, 1990).

La adición del preparado se efectuó a tres niveles crecientes (0.04%, 0.12% y 0.36% de la dieta) basándonos en la dosis que proporciona mejores resultados en aves y mamíferos (0.05%) y a las recomendaciones por parte de la casa comercial.

Los resultados muestran que, cuando se comparan aquellos obtenidos con la

dieta fabricada con harina de algodón sin suplementar y con la dieta control, la utilización digestiva de la proteína sigue manifestando las mismas diferencias que en el ensayo anterior (Tabla 4.31), si bien hay que matizar que la harina de pescado utilizada en este ensayo presentó una mejor utilización digestiva de la proteína, con lo que la mezcla proteica que resulta en la dieta A₂, en la que la harina de algodón sustituye en un 40% a la proteína de harina de pescado, presentó una digestibilidad superior a la de la dieta A ensayada anteriormente, no obstante, y como también se observa en dicha tabla, la digestibilidad de la proteína de la harina de algodón presentó unos valores semejantes a la obtenida en el ensayo 7. Por lo expuesto anteriormente, ambas dietas (C₂ y A₂) no son comparables, aunque sí extrapolables, a las dietas (C y A) previamente ensayadas, no sólo debido a la circunstancia anteriormente comentada, sino también a que los animales utilizados fueron distintos, así como la duración del periodo experimental. En este ensayo la duración fue de 21 días, tiempo suficiente para poder evaluar la digestibilidad de la proteína de la dieta que, por otra parte, constituía el principal objetivo.

Los resultados obtenidos en el VBA, al igual que los obtenidos en la utilización digestiva de la proteína, corroboran los obtenidos en el ensayo anterior, es decir, la buena utilización metabólica de la proteína de la harina de algodón, utilización que compensa su peor digestibilidad, por lo que el Valor Biológico de la proteína de esta dieta (A₂) es superior al de la dieta C₂ (Tabla 4.33).

Cuando comparamos los resultados obtenidos con las dietas a las que se suplementó con niveles crecientes del preparado multienzimático (AK₁, AK₂ y AK₃) con los correspondientes a la dieta con algodón sin suplementar (A₂), no encontramos diferencias. Es decir, la incorporación del complejo enzimático, que en principio supondría una intervención en cadena de sus enzimas, de tal forma que las proteasas y amilasas podrían actuar sobre la proteína y los hidratos de carbono de la harina de algodón, una vez que el complejo de celulasas, hemicelulasas y pentosanasas, entre otras enzimas del complejo, rompieran las paredes celulares y otras estructuras orgánicas que encierran o atrapan a las proteínas y al almidón, no ha tenido efecto.

El ataque enzimático previo, en principio, sería fundamental y quizás la no existencia del mismo, podría explicar la falta de efecto observado en los trabajos de los autores anteriormente comentados (Reinitz, 1983; Carter *et al.*, 1992) cuando adicionaron proteasas y amilasas respectivamente.

Para explicar nuestros resultados, en principio podría pensarse en la falta de capacidad catalítica del complejo a las concentraciones empleadas. Dichas concentraciones, concretamente al 0.12 y 0.36%, aunque se encuentran muy por encima de la adecuada para monogástricos terrestres (0.05%), posiblemente no hayan sido suficientes para compensar su actuación a la temperatura de 15°C, correspondiente al medio acuático donde se encontraban nuestros animales, ya que la temperatura óptima de actuación del citado complejo es de 30 - 40°C. Además, las proporciones entre macronutrientes de las dietas para peces son distintas a las utilizadas en los animales monogástricos terrestres, hecho que también podría motivar la ausencia de efecto del complejo enzimático.

Otra posible explicación podría encontrarse en el hecho de que, según Steffens (1987), el gopipol contenido en la harina de algodón se une a determinados grupos amínicos formando compuestos refractarios a la acción de los enzimas proteolíticos. Asimismo, Scerbina (1973) comprobó que, en triturados extractivos y tortas de semillas de algodón, se producía una baja disponibilidad de la lisina debido posiblemente a la reacción de Maillard motivada por el calentamiento al que se someten las semillas para la extracción del aceite.

El profundizar en los estudios acerca de la incorporación de esta clase de aditivos en los piensos comerciales para peces sería interesante, ya que su efectividad motivaría un mejor aprovechamiento de la dieta junto con una menor evacuación de desechos al medio, hechos que repercutirían favorablemente sobre los índices de productividad.

5.9. INFLUENCIA DE LA ADICION DE UN PREPARADO COMERCIAL ("NUTRIENTES DE AUTOMULTIPLICACION, TIPO B") SOBRE LA UTILIZACION DIGESTIVO-METABOLICA DE LA DIETA

La adición de un preparado comercial de aplicación ganadera, denominado como "plásmidos o nutrientes de automultiplicación, tipo B", de composición detallada desconocida, a pesar de solicitar detalles a la casa comercial (BIOAGA) e intentar un análisis microbiológico y bioquímico en nuestro entorno, no modificó la utilización nutritiva de la dieta para crecimiento. La indicación, en el folleto propagandístico de la citada empresa, de que contiene una mezcla de microorganismos y extractos de plantas, contrasta con la mínima cantidad en que debe ser adicionado al pienso (3 ml/10 Kg dieta), lo cual no nos permite asegurar la composición del producto.

La idea de que fueran microorganismos que, sumados a la flora intestinal, aumentarían el aporte de nutrientes, nos permitiría deducir que no habrían encontrado su medio y temperatura óptimos de actuación como para aumentar significativamente la conversión de la dieta. No obstante, precisamente por la falta de información, no creemos oportuno insistir en la discusión de estos resultados, aunque sí queremos dejar constancia de su falta de efecto en la trucha, en las condiciones experimentales señaladas.

5.10. INFLUENCIA, SOBRE LA UTILIZACION DE DIETAS CON HARINA DE GIRASOL, DE LA FORMULACION EN ENERGIA DIGESTIBLE Y LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS

Al ensayar la proteína de harina de girasol, como sustitutivo parcial de la proteína de harina de pescado, encontramos que, si bien su utilización digestiva era superior a la de la proteína de la dieta control, por el contrario, el uso metabólico fue inferior, circunstancia, esta última, que motivó una menor eficiencia de la energía metabolizable para promover crecimiento.

Entre las posibles hipótesis para explicar este hecho, estarían las ya comentadas anteriormente acerca de la existencia, en la proteína de la dieta con harina de girasol, de un cierto desbalance leucina/isoleucina, más que una deficiencia en sí de aminoácidos, pues la metionina, aunque se encuentra a unos valores inferiores a los de la dieta control, sin embargo se encuentra próxima a los valores recomendados para esta especie (Tabla 3.11). Asimismo, a la inferior calidad aminoacídica, se le sumaría un mayor destino de la proteína con fines energéticos, en relación a la proteína de la dieta control, motivado por el hecho de existir en esta última una mayor proporción de hidratos de carbono digestibles (pg. 218).

Para verificar ambas hipótesis, se formularon, en este ensayo, tres dietas (C₃, G₂ y G₂S) isocalóricas en energía digestible, en las que la proporción de macronutrientes digestibles (grasa, proteína, hidratos de carbono) permanecía constante (Tabla 3.9). A este respecto, hay que decir que si bien, por su menor digestibilidad, el contenido total de hidratos de carbono en las dietas con harina de girasol superaba al de la dieta control, al efectuar los análisis de las dietas con harina de girasol se encontraron unos niveles de hidratos de carbono inferiores a los esperados (Tabla 3.9), como ocurrió en ensayos anteriores al analizar dietas formuladas con fuentes proteicas vegetales, y como ya se expuso anteriormente, no encontramos una explicación demasiado clara. De todos modos, las diferencias en la cantidad de hidratos de carbono digestibles, existentes entre la dieta C₃ y las formuladas con harina de girasol, son

inferiores a las existentes entre las dietas C y G del Ensayo 7 y no suponen cambios en su energía digestible (Tabla 4.46).

Por otra parte, a una de las dietas formuladas con harina de girasol se le adicionaron los aminoácidos leucina, metionina y lisina, en cantidades adecuadas, para que también la proporción de aminoácidos digestibles de la proteína de la dieta (G₂S) fuera semejante a la de la dieta control (Tabla 3.12).

La utilización digestiva de la proteína de harina de girasol corroboró los resultados obtenidos en el Ensayo 7.

Al comparar los resultados de crecimiento, índice de conversión del alimento, utilización digestiva y metabólica de la proteína y rendimiento energético (Tablas 4.41 a 4.48) de las dietas formuladas con harina de girasol, no aparecieron diferencias significativas, lo que indicaría que o bien el desbalance de aminoácidos no era el causante de la inferior utilización proteica, o que la adición de aminoácidos no ejerce el efecto esperado en cuanto a mejora en la calidad de la proteína.

Como se comentó en el apartado 5.7 de este apartado de Discusión (pg. 218), existen autores que han puesto de manifiesto las repercusiones negativas de un desbalance aminoacídico, concretamente entre los aminoácidos leucina e isoleucina (Chance *et al.*, 1964; Harper *et al.*, 1970; Hughes y Rumsey, 1983; Robinson *et al.*, 1984c), sin embargo, Cowey (comunicación personal) opina lo contrario, en el sentido de que indica que para que se manifieste un desbalance aminoacídico, éste tiene que ser muy acusado, circunstancia que por otra parte no se da en las dietas ensayadas por nosotros.

Por otra parte, existen abundantes datos en bibliografía acerca de la poca efectividad de la incorporación de aminoácidos libres a proteínas incompletas para mejorar su utilización, especialmente en los peces agástricos. Así, cuando la proteína es restituida o suplementada con aminoácidos libres, las tasas de crecimiento obtenidas

son inferiores a las resultantes con dietas de la misma composición pero con todos los aminoácidos en forma proteica. Este tipo de respuesta ha sido observada en carpa (Aoe *et al.*, 1970; Plakas *et al.*, 1980; Murai *et al.*, 1981, 1984; Kaushik y Dabrowski, 1983), pez "milk" (Coloso *et al.*, 1988), tamboril rojo (Moon y Gatlin, 1991), tilapia (Mazid *et al.*, 1978) y trucha (Ketola, 1982; Tacon *et al.*, 1984; Walton *et al.*, 1986).

Cuando comparamos los resultados de los distintos índices nutritivos obtenidos con las dietas con girasol frente a la dieta control, no encontramos diferencias significativas que nos pongan de relieve una diferente utilización nutritiva de las distintas dietas. Los datos obtenidos para la cantidad de alimento ingerido, corroboraron lo anteriormente expuesto acerca de que los animales regulan su ingesta en base a la disponibilidad de energía para la maquinaria metabólica del animal, expresada en términos de cantidad, equilibrio y calidad de los nutrientes.

Hay que hacer constar que las dietas fueron formuladas en energía digestible, por lo que la energía bruta de aquellas formuladas con harina de girasol era superior, ello motiva el que no existan diferencias en los IC y sí las haya cuando relacionamos el crecimiento con la ingesta en energía bruta de alimento (EBI/Kg pez, Tabla 4.46).

Los índices de utilización metabólica de la proteína (CEC, VB, VPP) fueron semejantes para todas las dietas, es decir, al contrario de los resultados obtenidos en el Ensayo 7, en este ensayo hemos obtenido una mejora en la utilización metabólica de la proteína, lo que ha repercutido favorablemente en la utilización nutritiva de la dieta en su conjunto.

Dado que en el Ensayo 7, previo a éste, se utilizó una harina de pescado distinta, para comparar los resultados obtenidos, en cuanto a utilización de la proteína, con las dietas formuladas con harina de girasol en ambos ensayos (G y G₂, G₂S), se ha adjudicado el valor de 100 a ambos controles, extrapolando los valores correspondientes para el resto de las dietas experimentales (Fig. 5.6).

Como se puede observar, el hecho de formular en este ensayo las dietas con el fin de que la proporción de nutrientes digestibles fuera semejante, obligó a disminuir la cantidad de proteína bruta y aumentar la de hidratos de carbono en las dietas con harina de girasol respecto a la dieta control, y ello ha supuesto efectos beneficiosos, con lo que se corrobora una de las hipótesis del trabajo, derivada del Ensayo 7.

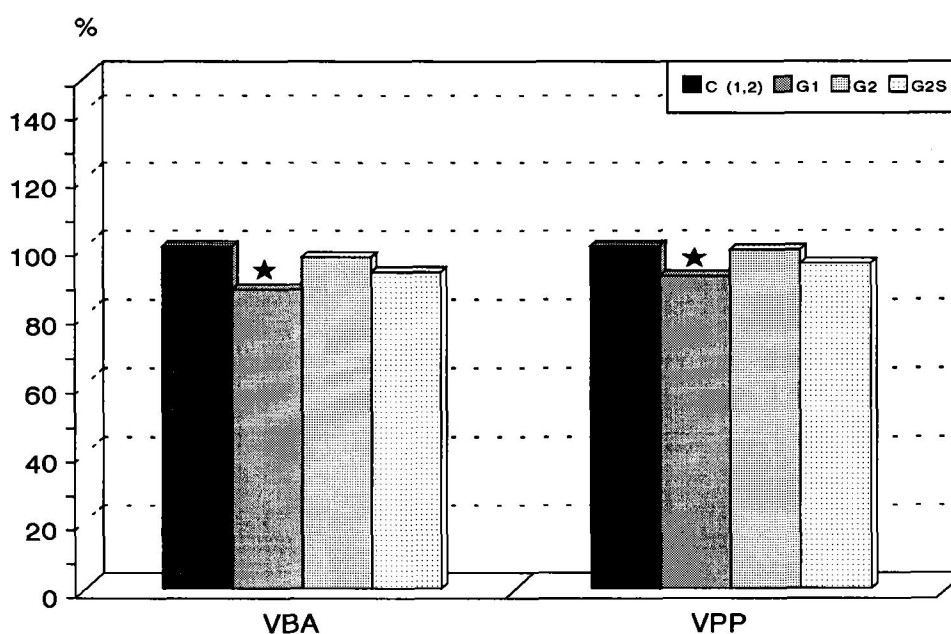


Fig. 5.6. Influencia de la formulación en energía digestible y de la suplementación con aminoácidos sobre la utilización de la proteína de la dieta. (* diferencias significativas respecto al resto de las dietas).

Estos resultados vuelven a plantear el papel positivo que pueden desempeñar los hidratos de carbono en la alimentación de salmónidos, y su capacidad para sustituir el destino energético o gluconeogénico de los aminoácidos, circunstancia que está siendo puesta de manifiesto en los últimos años por numerosos investigadores (Lee y Putnam, 1973; Pieper y Pfeffer, 1979, 1980a,b; Bergot, 1979b; Kaushik y Oliva-Teles, 1985; Kim y Kaushik, 1992) y que, a efectos prácticos, se traduce en una reducción de los costes de alimentación, junto con una menor eliminación de desechos nitrogenados al medio.

5.11. INFLUENCIA DE LA MEZCLA DE DOS FUENTES PROTEICAS VEGETALES Y DE LA SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS, SOBRE LA UTILIZACION DE UNA DIETA FORMULADA EN ENERGIA DIGESTIBLE

El principal objetivo de las investigaciones acerca de la valoración nutritiva de fuentes proteicas alternativas a la proteína de harina de pescado, es el de llegar a una sustitución total de dicha proteína para independizar, en lo posible, la producción de peces de la pesca de otras especies destinadas a la fabricación de harinas de pescado.

En el Ensayo 7, cuyos resultados se han descrito en el apartado 4.5, la proteína de gluten de maíz reveló, corroborando lo expuesto por otros investigadores (Alexis *et al.*, 1985; Facounneau, 1988; Moyano *et al.*, 1991, 1992), su buena utilización nutritiva, a los niveles de sustitución ensayados (40% de la proteína control, de harina de pescado). El patrón aminoacídico de dicha proteína (Tabla 3.2) presentaba ciertas deficiencias de metionina y, sobre todo, de lisina y, además, la proporción Leu/Ile era inferior a la que se deduce a partir de las necesidades de estos aminoácidos recomendadas para salmónidos, de forma que la mayor proporción de leucina podría compensar la menor cantidad de este aminoácido existente en la proteína de la harina de girasol. A este respecto Hughes *et al.* (1984) consideran que el desequilibrio en las proporciones de Leu e Ile, existente en la harina de gluten de maíz, constituye un factor limitante para su utilización a altos niveles en dietas para peces. Por ello, pensamos formular una dieta (GLGS) en la que, mezclando ambas fuentes en una determinada proporción (47% proteína de girasol: 53% proteína de gluten de maíz, sobre el total de proteína de la dieta), desapareciese el posible desbalance aminoacídico; a su vez, se le adicionaron los aminoácidos Lys y Met, en cantidades tales que la proteína presentara el mismo patrón aminoacídico digestible que el de la dieta control (Tabla 3.12). Ambas dietas se formularon isocalóricas en energía digestible, para que, como en el caso de las dietas cuyos resultados se han discutido en el apartado anterior, la calidad y el equilibrio de los macronutrientes "teóricamente" digestibles fuera semejante para cada uno de ellos (Tabla 4.10). El análisis posterior de los macronutrientes digestibles y de la energía digestible así lo confirmaron (Tablas 4.54 y 4.56), con la salvedad de la

cantidad de hidratos de carbono que fue ligeramente inferior, aunque esta circunstancia no ha supuesto un detrimento en la ED/Kg dieta (Tabla 4.54).

Por otra parte, en este ensayo se corroboran los resultados previamente obtenidos que manifiestan la buena utilización digestiva de la proteína de harina de gluten de maíz y de girasol (Tabla 4.51).

Por lo que respecta a los resultados de ingesta, hemos de decir que, a pesar de la adición de Betaína, con el fin de aumentar la palatabilidad de la dieta fabricada sin harina de pescado, la aceptación de la misma fue significativamente inferior a la de la dieta control. Podría pensarse que la menor cantidad de energía digestible ingerida (Tabla 4.54), motivado por las inferiores propiedades organolépticas de la dieta, fuera responsable de la peor utilización nutritiva de la misma, puesto de manifiesto por los resultados obtenidos en los distintos índices (Tabla 4.53), existiendo para todos ellos valores estadísticamente inferiores a los obtenidos con la dieta control.

Sin restar importancia al factor ingesta, pensamos que, en la inferior utilización nutritiva de la dieta formulada con las materias primas vegetales como única fuente de proteína, también ha repercutido la calidad de la proteína existente en la misma, como así lo indican los resultados obtenidos para el VBA de la proteína (Tabla 4.53). Concretamente, el VBA de la proteína de la dieta GLGS equivale a un descenso del 25% con respecto al obtenido para la dieta control. A pesar de la buena utilización digestiva de la proteína de la dieta GLGS, ello no ha sido suficiente para compensar su inferior utilización metabólica, de tal modo que el CEC y el VPP presentan un descenso de un 20% con respecto a los valores obtenidos para los mismos índices en la dieta control.

Es sabido que la utilización nutritiva de la proteína se resiente cuando la cantidad ingerida es tan escasa que promueve en el animal un predominio de la degradación sobre la síntesis proteica (Nose, 1971; Cowey *et al.*, 1972; Ogino *et al.*, 1976), pero los niveles de ingesta nitrogenada que provocan esta circunstancia son mucho menores en las existentes en nuestro ensayo.

Asimismo, los animales alimentados de forma restringida utilizan mejor la proteína dietaria que los alimentados hasta saciedad (Li y Lovell, 1992). Es decir, una menor ingesta proteica promueve normalmente un mayor Valor Biológico para una misma calidad proteica (Ogino y Chen, 1973b).

Por todo lo expuesto anteriormente, la inferior calidad de la proteína ha condicionado también su inferior utilización nutritivo-energética. La inferior calidad se debería al déficit dietario de aminoácidos que, por otra parte, no ha podido ser suplido por los aminoácidos incorporados de forma libre, poniéndose de nuevo de manifiesto el hecho de que, pese a que la trucha parece utilizar los aminoácidos libres mejor que otros peces, sin embargo, se requieren futuras investigaciones para procurar la absorción retardada de los mismos, o bien otros mecanismos que, en definitiva, incidan sobre la sincronía de aparición y permanencia así como sobre la disponibilidad, entendiendo por disponibilidad la proporción del total de aminoácidos que es digerida y absorbida en una forma adecuada para síntesis proteica, en el plasma de los aminoácidos libres suplementados con los que proceden de la digestión proteica.

6. CONCLUSIONES

1. La modificación, realizada en este trabajo, del método de recogida de heces, a partir del propuesto por Cho *et al.* (1975, 1982), supone una mejora en cuanto a que reduce la ruptura de las heces durante la toma de muestras y, por consiguiente, altera en menor grado la composición de las mismas, dando lugar a resultados más reales.

2. La utilización de la fibra, componente habitual en las dietas, como marcador inerte, puede considerarse como una alternativa al sesquióxido de cromo, sobre todo en aquellas circunstancias que no permitan la incorporación de este último marcador a la dieta.

3. Los aglutinantes carboximetil celulosa, alginato sódico y carbapol 941, incorporados al 2% de la dieta, no difieren en cuanto a la posible influencia sobre la utilización digestiva de la misma.

4. La determinación del Coeficiente de Digestibilidad de un nutriente, de forma indirecta, cuando éste sustituye parcialmente a otro de igual naturaleza pero de distinta procedencia, y de digestibilidad conocida, es válida y mantiene la proporcionalidad esperada a distintos niveles de sustitución. La aplicación de la excreción fecal endógena de nitrógeno, al cálculo del Coeficiente de Digestibilidad real de la proteína, eleva los valores de este índice en, tan solo, un 1.2%.

5. Cuando no sea posible determinar el contenido energético del animal en bomba calorimétrica adiabática, es más correcto aplicar, para la grasa corporal, un factor calórico de 35.9 KJ/g, que el estándar de 39.54 KJ/g.

6. Un factor determinante de la autorregulación de la ingesta de alimento, en la trucha, es la cantidad y calidad de la energía digestible utilizable por la maquinaria metabólica del animal.

7. Las dietas formuladas con harina de algodón, harina de soja, gluten de maíz, harina de girasol, harina de altramuç y caseína, en las que la proteína de la materia prima sustituye en un 40% a la de la harina de pescado, promueven resultados satisfactorios desde el punto de vista productivo.

8. La disminución en el contenido de energía digestible, de alguna de las materias primas ensayadas, viene condicionada por el componente hidrocarbonado presente en las mismas. La adición de hidratos de carbono, para compensar la deficiencia en energía digestible de la materia prima, promueve una mejor utilización de la proteína y de la energía de la dieta, en su conjunto, formulada con dicha materia prima.

9. Los procedimientos utilizados en este trabajo para mejorar la utilización digestiva y metabólica de las dietas, formuladas con las materias primas que así lo requerían, tales como la adición de preparados comerciales (KEMZYME, Nutrientes de Automultiplicación), mezcla de materias primas y adición de aminoácidos libres, no han producido los efectos esperados.

7. REFERENCIAS

- AKIYAMA, T.; MURAI, T.; HIRASAWA, Y. y NOSE, T. (1984)
Supplementation of various meals to fish meal diet for chum salmon fry.
Aquaculture, 37: 217-222.
- ADAMS, C.A. (1989)
The use of Kemzyme in feed manufacture and animal nutrition.
Feed Compounder, 9: 34-37.
- ALEXIS, M.N.; PAPARASKEVA-PAPATSOGLU, E. y TEOCHAR, V. (1985)
Formulation of practical diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by-products and certain plant by-products.
Aquaculture, 50: 61-73.
- ALLIOT, E.; PASTOUREAUD, A.; PELAEZ HUDLET, J. y METAILLER, R. (1979)
Utilisation des farines végétales et des levures cultivées sur alcanes pour l'alimentation du bar (*Dicentrarchus labrax*).
En: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver y K. Tiews Eds.), vol. II. Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 229-238.
- ALTSCHUL, A.M.; LYMAN, C.M. y THURBER, F.H. (1958)
Cotton seed meal.
En: *Processed Plant Protein Foodstuffs* (A.M. Altschul, Ed.). Academic Press Inc., New York. pp. 469-534.
- ANANICHEV, A.V. (1959)
Digestive enzymes of fish and seasonal changes in their activity.
Biokhimiya, 24: 1033-1040.
- ANDERSON, J.; CAPPER, B.S. y BROMAGE, N.R. (1991)
Measurement and prediction of digestible energy values in feedstuffs for the herbivorous fish tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.).
Br. J. Nutr., 66: 37-48.
- AOAC (1980)
Official Methods of Analysis.
Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1018 pp.
- AOE, H.; MASUDA, I.; ABE, I.; SAITO, T.; TOYODA, T. y KITAMURA, S. (1970)
Nutrition of protein in young carp. I. Nutritive value of free amino acids.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 36: 407-413.

- ARNENSEN, P.; BRATTAS, L.E.; OLLI, J. y KROGDAHL, A. (1989)
Soybean carbohydrates appear to restrict the utilization of nutrients by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.).
Proc. Third Int. Symp. Feeding and Nutrition in Fish. Toba, Japan. pp. 273-280.
- ASGARD, T. y AUSTRENG, E. (1985a)
Dogfish offal, ensiled or frozen, as feed for salmonids.
Aquaculture, 49: 289-305.
- ASGARD, T. y AUSTRENG, E. (1985b)
Casein silage as feed for salmonids.
Aquaculture, 48: 233-252.
- ATKINSON, J.L.; HILTON, J.W. y SLINGER, S.J. (1984)
Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator of feed digestibility in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41: 1384-1386.
- AUSTIC, R.E y CALVERT, C.C. (1981)
Nutritional interrelationships of electrolytes and amino acids.
Fed. Proc., 40: 63-67.
- AUSTRENG, E. (1978)
Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract.
Aquaculture, 13: 265-272.
- AUSTRENG, E.; RISA, S.; EDWARDS, D.J. y HVIDSTEN, H. (1977)
Carbohydrate in rainbow trout diets. II. Influence of carbohydrate levels in chemical composition and feed utilization of fish from different families.
Aquaculture, 11: 39-50.
- BAKER, D.M. y CZARNCKI-MAULDEN, G.L. (1991)
Comparative nutrition of cats and dogs.
Ann. Rev. Nutr., 11: 239-263.
- BLAXHALL, P.C. y DAISLEY, K.W. (1973)
Routine haemathological methods for use with fish blood.
J. Fish Biol., 71: 309-315.

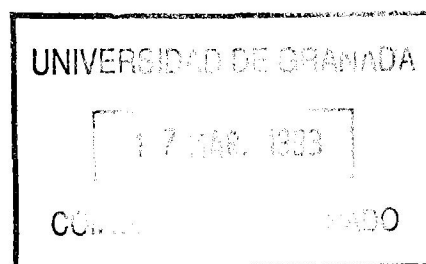
- BARROS, M.M. (1992)
Effects of cottonseed meal, as succedaneous protein, on growth performance in fingerlings common carp (*Cyprinus carpio*, L.).
Proc. V Int. Symp. on Fish Nutrition and Feeding. Santiago, Chile. (abstr.)
- BECKER, M. y NEHRING, K. (1965)
Handbuch der Futtermittel, vol. II.
Paul Parey, Hamburg. 475 pp.
- BERGOT, F. (1979a)
Effects of dietary carbohydrates and on their mode of distribution in glycaemia in rainbow trout.
Comp. Biochem. Physiol., 64: 543-547.
- BERGOT, F. (1979b)
Problemes particuliers posés par l'utilisation des glucides chez la truite arc-en-ciel.
Ann. Nutr. Alim., 33: 247-257.
- BERGOT, F. y BREQUE, J. (1983)
Digestibility of starch by rainbow trout: effects of the physical state of starch and of the intake level.
Aquaculture, 34: 203-212.
- BEUKEMA, J.J. y BRUIN, W. (1979)
Calorific values of the soft parts of the tellinid bivalve, *Macoma balthica* (L.) as determined by two methods.
J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 37: 19-30.
- BIAP (1992a)
Boletín de Información Agraria y Pesquera, n° 62.
Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. 77 pp.
- BIAP (1992b)
Boletín de Información Agraria y Pesquera, n° 52.
Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. 73 pp.
- BISHOP, C. y ODENSE, P.H. (1966)
Morphology of the digestive tract of the cod, *Gadus morhua*.
J. Fish. Res. Bd. Can., 23: 1607-1615.

- BOCCIGNONE, M.; FORNERIS, G. y PALMEGIANO, G.B. (1989)
Use of extruded maize in rainbow trout feed improves growth rate and quality.
Aquacult. Eng., 8: 139-145.
- BONDI, A. y SPANDORF, A. (1953)
The activity of digestion enzymes of the carp.
Bamidgh, 5: 116-130.
- BONDI, A., SPANDORF, A. y CALMI, R. (1957)
The nutritive value of various feeds for carp.
Bamidgeh, 9: 13-18.
- BORLONGAN, I.G. (1992)
Dietary requirements of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles for total aromatic amino acids.
Aquaculture, 102: 309-317.
- BOUGUENEC, V. (1992)
Oligochaetes (Tubificidae and Enchytracidae) as food in fish rearing: a review and preliminary test.
Aquaculture, 102: 201-217.
- BOWEN, S.H. (1978)
Chromic oxide in assimilation studies -- a caution.
Trans. Am. Fish. Soc., 107: 755-756.
- BOWEN, S.H. (1981)
Digestion and assimilation of periphytic detrital aggregate by *Tilapia mossambica*.
Trans. Am. Fish. Soc., 110: 239-245.
- BRETT, J.R. (1971)
Satiation time, appetite, and maximum food intake of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*).
J. Fish. Res. Bd. Can., 28: 409-415.
- BRETT, J.R. (1972)
The metabolic demand for oxygen in fish, particularly salmonids and a comparison with other vertebrates.
Respir. Physiol., 14: 151-170.

- BRETT, J.R. y GROVES, T.D.D. (1979)
Physiological energetics.
En: *Fish Physiology. VIII. Bioenergetics and Growth* (W.S. Hoar, D.J. Randall y J.R. Brett, Eds.). Academic Press, New York. pp. 279-352.
- BRODY, S. (1945)
Bioenergetics and growth, with special reference to the efficiency complex in domestic animals.
Reinhold Publ. Co. Reprinted 1974 by Hafner Press, New York.
- BROWN, B.P.; STRANGE, R.J. y ROBBINS, K.R. (1985)
Protein digestibility coefficients for yearling channel catfish fed high protein feedstuffs.
Prog. Fish Cult., 47: 94-97.
- BUDDINGTON, R.K. (1979)
Digestion of an aquatic macrophyte by *Tilapia zilli* (Gervais).
J. Fish. Biol., 15: 449-456.
- BUDDINGTON, R.K. (1980)
Hydrolysis-resistant organic matter as a reference for measurement of fish digestive efficiency.
Trans. Am. Fish. Soc., 109: 653-656.
- BUDDINGTON, R.K. y HILTON, J.W. (1987)
Intestinal adaptations of rainbow trout to changes in dietary carbohydrate.
Am. J. Physiol., 253 (Gastrointest. Liver Physiol., 16): G489-G496.
- CARDENETE, G. (1985)
Consecuencias nutritivas de la sustitución energética de la proteína dietaria por grasa y/o hidratos de carbono en la trucha.
Tesis Doctoral. Univ. Granada. Granada, España. 224 pp.
- CARDENETE, G.; GARZON, A.; MOYANO, F.J. y DE LA HIGUERA, M. (1991)
Nutritive utilization of earthworm protein by fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Proc. IV Int. Symp. on Fish Nutrition and Feeding. Biarritz, Francia. (abstr.)
- CARNEIRO, J. (1992)
Interactions of temperature and dietary levels of protein and energy in pagu. II-Effects on digestibility of protein and transit time through the gastrointestinal tract.
Proc. V Int. Symp. on Fish Nutrition and Feeding. Santiago, Chile. (abstr.)

- CARTER, C.G.; HOULIHAN, D.F. y McCARTHY, I.D. (1992)
Feed utilization efficiencies of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr: effect of a single supplementary enzyme.
Comp. Biochem. Physiol., 101A: 369-374.
- CASTANON, J.I.R. y MARQUARDT, R.R. (1989)
Effect of enzyme addition, autoclave treatment and fermenting on the nutritive value of field beans (*Vicia faba* L.).
Anim. Feed Sci. Technol., 26: 71-79.
- CASTELL, J.O. (1979)
Review of lipid requirements of finfish.
En: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver y K. Tiews Eds.), vol. I. Heenemann Verlagsgesell., Berlín. pp. 59-84.
- CASTLEDINE, A.J.; CHO, C.Y.; SLINGER, S.J.; HICKS, B. y BAYLEY, H.S. (1978)
Influence of dietary biotine on growth, metabolism and pathology of rainbow trout.
J. Nutr., 108: 698-711.
- CHAKRABORTY, S.C.; ROSS, L.G. y ROSS, B. (1992)
The effect of dietary protein level and ration level on excretion of ammonia in common carp, *Cyprinus carpio*.
Comp. Biochem. Physiol., 103A: 801-808.
- CHANCE, R.E.; MERTZ, E.T. y HALVER, J.E. (1964)
Nutrition of salmonids fishes. XII. Isoleucine, leucine, valine and phenylalanine requirements of chinook salmon and interrelations between isoleucine and leucine for growth.
J. Nutr., 83: 177-185.
- CHEPIK, K. (1964)
Activity of carp digestive enzymes at different seasons of the year.
Izv. Akad. Nauk. Latv. SSR, 5: 73-79.
- CHIOU, J.Y. y OGINO, C. (1975)
Digestibility of starch in carp.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41: 465-466.

- CHO, C.Y. (1982)
Effects of dietary protein and lipid levels on energy metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Proc. 9th Int. Symp. on Energy Metabolism of Farm Animals. Europ. Assoc. Anim. Prod. Publ. No 29: 250-254.
- CHO, C.Y. (1983)
Nutrition and Fish Health.
En: *A guide to integrated fish health management in the great lake Basin* (F.P. Meyer, J.W. Warren y T.G. Carey, Eds.). Grest Lakers Fishery Commision, Ann Arbor, Muchigan. Spec. Publ. 83-2, 272 pp.
- CHO, C.Y. (1987)
La energía en la nutrición de los peces.
En: *Nutrición en Acuicultura* (J.E. Espinosa de los Monteros y U. Labart, Eds.), vol. II. Plan Form. Tec. Sup. Acuic. CAYCIT, Madrid. pp. 197-243.
- CHO, C.Y. y SLINGER, S.J. (1979)
Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout.
En: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver y K. Tiews Eds.), vol. II. Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 239-247.
- CHO, C.Y. y SLINGER, S.J. (1980)
Effect of water temperature on energy utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Proc. 8th Symp. on Energy Metabolism. Cambridge, U.K. pp. 287-291.
- CHO, C.Y. y KAUSHIK, S.J. (1985)
Effects of protein intake on metabolizable and net energy values of fish diets.
En: *Nutrition and Feeding in Fish* (C.B. Cowey, A.M. Mackie y J.G. Bell, Eds.). Academic Press, London. pp. 95-117.
- CHO, C.Y. y KAUSHIK, S.J. (1990)
Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
World Rev. Nutr. Diet., 61: 132-172.
- CHO, C.Y. y WATANABE, T. (1986)
Dietary energy and lipid requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at different water temperatures.
En: *Energy Metabolism of Farm Animals*. Proc. 10th Symp. EAPP. Airlie, Virginia.



- CHO, C.Y. y WOODWARD, B. (1989)
Studies on the protein to energy ratio in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
En: *Energy Metabolism of Farm Animals*. Proc. 11th Symp. EAPP. Publ. No 43, pp. 37-48.
- CHO, C.Y. y COWEY, C. (1991)
Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.
En: *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish* (R.P. Wilson, Ed.). CRC Press, Boca raton, Florida. pp. 131-143.
- CHO, C.Y.; BAYLEY, H.S. y SLINGER, S.J. (1975)
An automated fish respirometer for nutrition studies.
Proc. 28th Ann. Meeting of Can. Conf. for Fish. Res., Vancouver, B.C.
- CHO, C.Y.; BAYLEY, H.S. y SLINGER, S.J. (1976)
Energy metabolism in growing rainbow trout: Partition of dietary energy in high protein and high fat diets.
Proc. 7th Symp. on Energy Metabolism. Vichy, France. pp. 299-302.
- CHO, C.Y.; SLINGER, S.J. y BAYLEY, H.S. (1982)
Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity.
Comp. Biochem. Physiol., 73B: 25-41.
- CHO, C.Y.; COWEY, C.B. y WATANABE, T. (1985)
Finfish nutrition in Asia. Methodological approaches to research and development.
International Development Research Centre, Ottawa, Ontario, Publ. No. IDRC-233a, 154 pp.
- CHOUBERT, G.; DE LA NOÛE, J. y LUQUET, P. (1979)
Continuous quantitative automatic collector for fish feces.
Prog. Fish Cult., 41: 64-67.
- CHOUBERT, G.; DE LA NOÛE, J. y LUQUET, P. (1982)
Digestibility in fish: improved device for the automatic collection of feces.
Aquaculture, 29: 185-189.
- CHOUBERT, G.; DE LA NOÛE, J. y LUQUET, P. (1983)
Un nouveau collecteur automatique quantitatif de feces de poissons.
Bull. Fr. Piscic., 288: 68-72.

CLANDININ, D.R. (1958)

Sunflower seed oil meal.

En: *Processed Plant Protein Foodstuffs* (A.M. Altschul, Ed.). Academic Press Inc., New York. pp. 557-575.

COHEN, T.; GERTLER, A. y BIRK, Y. (1981)

Pancreatic proteolytic enzymes from carp (*Cyprinus carpio*). I. Purification and physical properties of trypsin, chymotrypsin, elastase and carboxypeptidase B.

Comp. Biochem. Physiol., 69B: 639-646.

COLOSO, R.M; BENITEZ, L.V. y TIRO, L.B. (1988)

The effect of dietary protein-energy levels on growth and metabolism of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal).

Comp. Biochem. Physiol., 89A: 11-17.

COOPER, E.J. (1961)

Growth of wild and hatchery strains of brook trout.

Trans. Am. Fish. Soc., 90: 424-438.

COWEY, C.B. y SARGENT, J.R. (1979)

Nutrition.

En: *Fish Physiology. VIII. Bioenergetics and Growth* (W.S. Hoar, D.J. Randall y J.R. Brett, Eds.). Academic Press, New York. pp. 1-69.

COWEY, C.B.; POPE, J.A.; ADRON, J.W. y BLAIR, A. (1972)

Studies on the nutrition of marine flatfish. The protein requirement of plaice (*Pleuronectes platessa*).

COWEY, C.B.; ADRON, J.; BLAIR, A. y SHANKS, A.M. (1974)

Studies on the nutrition of marine flatfish. Utilization of various dietary proteins by plaice (*Pleuronectes platessa*).

Br. J. Nutr., 31: 297-306.

CRAIG, J.F; KENLEY, M.J. y TALLING, J.F. (1978)

Comparative estimations of the energy content of fish tissue from bomb calorimetry, wet oxidation and proximate analysis.

Freshwater Biol., 8: 585-590.

- CUENCA, E.M. y GARCIA-GALLEGO, M. (1987)
Ingesta y conducta alimentaria.
En: *Nutrición en Acuicultura* (J.E. Espinosa de los Monteros y U. Labart, Eds.), vol. I. Plan Form. Tec. Sup. Acuic. CAYCIT, Madrid. pp. 1-65.
- CUI, Y. y WOOTTON, R.J. (1988)
Bioenergetics of growth of a cyprinid, *Phoxinus phoxinus* (L.) (Pisces: Cyprinidae).
Funct. Ecol., 2: 57-62.
- CUI, Y. y LIU, J. (1990)
Comparison of energy budget among six teleost - I. Food consumption, faecal production and nitrogenous excretion.
Comp. Biochem. Physiol., 96A: 163-171.
- DABROWSKA, H.; GRUDNIEWSKI, C. y DABROWSKI, K. (1979)
Artificial diets for common carp: effect of the addition of enzyme extracts.
Prog. Fish Cult., 41: 196-200.
- DABROWSKI, K.; POCZYCZYNSKI, P.; KÖCK, G. y BERGER, B. (1989)
Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New *in vivo* test for exocrine pancreatic secretion.
Aquaculture, 77: 29-49.
- DE LA HIGUERA, M. (1987)
Requerimientos de proteína y aminoácidos en peces.
En: *Nutrición en Acuicultura* (J.E. Espinosa de los Monteros y U. Labart, Eds.), vol. II. Plan Form. Tec. Sup. Acuic. CAYCIT, Madrid. pp. 53-98.
- DE LA HIGUERA, M. y CARDENETE, G. (1987)
Fuentes alternativas de proteína y energía en acuicultura.
En: *Alimentación en Acuicultura* (J.E. Espinosa de los Monteros y U. Labart, Eds.). Plan Form. Tec. Sup. Acuic. CAYCIT, Madrid. pp. 59-129.
- DE LA HIGUERA, M.; GARCIA-GALLEGO, M.; SANZ, A.; CARDENETE, G.; SUAREZ, M.D. y MOYANO, F.J. (1988)
Evaluation of lupin seed meal as an alternative protein source in feeding of rainbow trout (*Salmo gairdenri*).
Aquaculture, 71: 37-50.

- DE LA NOUE, J. y CHOUBERT, G. (1986)
Digestibility in rainbow trout: comparison of the direct and indirect methods of measurement.
Prog. Fish Cult., 48: 190-195.
- DE SILVA, S.S. y BALBONTIN, F. (1974)
Laboratory studies on food intake, growth and food conversion of young herring *Clupea harengus* L.
J. Fish Biol., 6: 645-658.
- DE SILVA, S.S. y PEREA, M.K. (1983)
Digestibility of an aquatic macrophyte by the cichlid *Etroplus suratensis* (Bloch) with observations on the relative merits of three indigenous components as markers and daily changes in protein digestibility.
J. Fish Biol., 23: 675-684.
- DENTON, J.E.; YOUSEF, M.K.; YOUSEF, Y.M. y KUKSIS, J.E. (1974)
Bile acid composition of rainbow trout, *Salmo gairdneri*.
Lipids, 9: 945-951.
- DORSA, W.J.; ROBINETTE, H.R.; ROBINSON, E.H. y POE, W.E. (1982)
Effects of dietary cotton seed meal and gossypol on growth of young channel catfish.
Trans. Am. Fish. Soc., 3: 651-655.
- DUNCAN, D.B. (1955)
Multiple range and multiple *F* tests.
Biometrics, 11: 1-42.
- DUPREE, H.K. y SNEED, K.E. (1966)
Response of channel catfish fingerlings to different levels of major nutrients in purified diets.
US Bureau of Sport Fish Wild., Tech. Pap., 9, 21 pp.
- EDIN, H. (1918)
Orientance försök över användbarheten av en p "ledkroppsprincipen" grundad metod att bestämma en foderblandings smältbarhet.
Meddelande n:r 165 från Centralanstalten på jordbruksområdet, husdjursavdelingen N:r 25, Sthlm. 22.
- EDWARDS, D.J.; AUSTRENG, E.; RISA, S. y GJEDREM, T. (1977)
Carbohydrate in rainbow trout diets. I. Growth of fish of different families fed diets containing different proportions of carbohydrate.
Aquaculture, 11: 31-38.

- EGGUM, B.O. (1968)
Aminosyrekoncentration og proteinkvalitet.
Stougaarsds Forlag, Kobenhavn. 90 pp.
- EID, A.E. y MATTY, A.J. (1989)
A simple In Vitro method for measuring protein digestibility.
Aquaculture, 79: 111-119.
- ELLIOTT, J.M. (1975)
Number of meals in a day, maximum weight of food consumed in a day and maximum rate of feeding for brown trout, *Salmo trutta* L.
Freshwat. Biol., 5: 287-303.
- ELLIOTT, J.M. (1976)
The energetics of feeding, metabolism and growth of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to body weight, water temperature and ration size.
J. Anim. Ecol., 45: 923-948.
- ELLIOTT, J.M. (1979)
Energetics of freshwater teleost.
Symp. Zool. Soc. Lond., 44: 29-61.
- ELLIOTT, J.M. y DAVISON, W. (1975)
Energy equivalents of Oxygen consumption in animal energetics.
Oecologia, 19: 195-201.
- ELLIS, S.C. y REIGH, R.C. (1991)
Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juveniles red drum, *Sciaenops ocellatus*.
Aquaculture, 97: 383-394.
- EL-SAYED, A.M. (1987)
Protein and energy requirements of *Tilapia zillii*.
Tesis Doctoral. Michigan State Univ., East Lansing, MI. 147 pp.
- EL-SAYED, A.M. (1990)
Long-term evaluation of cotton seed meal as a protein source for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.).
Aquaculture, 84: 315-320.

- FABRIDGE, K. y LEATHERLAND, J.F. (1987)
Lunar cycle of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. 1. Growth and feeding.
J. Exp. Biol., 129: 165-178.
- FALGE, R.; SCHPANOF, L. y JURSS, K. (1978)
Amylase, esterase and protease activity in the intestine content of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich., after feeding with feed containing different amounts of starch and protein.
Ichthyol., 18: 283-287.
- FÄNGE, R. y GROVE, D. (1979)
Digestion
En: *Fish Physiology. VIII. Bioenergetics and Growth* (W.S. Hoar, D.J. Randall y J.R. Brett, Eds.). Academic Press, New York. pp. 162-241.
- FAO (1983)
Fish feeds and feeding in developing countries.
UNDPL/FAO, ADCP/REP/83/18, 97 pp.
- FAO (1985)
Production Yearbook.
FAO, Rome.
- FAUCONNEAU, B. (1985)
Protein synthesis and protein deposition in fish.
En: *Nutrition and Feeding in Fish* (C.B. Cowey, A.M. Mackie y J.G. Bell, Eds.). Academic Press, London. pp. 17-45.
- FAUCONNEAU, B. (1988)
Partial substitution of protein by a single amino acid or an organic acid in rainbow trout.
Aquaculture, 70: 97-106.
- FISCHER, Z. (1973)
The elements of energy balance in grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.). Part IV.
Consumption rate of grass carp fed on different type of food.
Polsk. Arch. Hydrobiol., 20: 309-318.
- FONDS, M. y SAKSENA, V.P. (1977)
The daily intake of young soles (*Solea solea* L.) in relation to their size and water temperature.
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4: 51-58.

FOWLER, L.G. (1980)

Substitution of soy bean and cotton seed products for fish meal in diets fed to chinook and coho salmon.

Prog. Fish Cult., 42: 87-91.

FRAISSE, M.; WOO, N.Y.S.; NOAILLAC, J. y MURAT, J.C. (1981)

Distribution pattern of digestive enzyme-activities in the intestine of the catfish (*Ameiurus nebulosus* L.) and the carp (*Cyprinus carpio* L.).

Comp. Bioc. A., 70: 443-446.

FROM, J. y RASMUSSEN, G. (1984)

A growth model, gastric evacuation, and body composition in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, 1836.

Dana, 3: 61-139.

FURUICHI, M. y YONE, Y. (1981)

Change of blood sugar and insulin levels of fishes in glucose tolerance test.

Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., 17: 21-25.

FURUICHI, M. y YONE, Y. (1982)

Availability of carbohydrate in nutrition of carp and red seam bream.

Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48: 945-948.

GARBER, K.J. (1983)

Effect of fish size, meal size and dietary moisture on gastric evacuation of pelleted diets by yellow perch, *Perca flavescens*.

Aquaculture, 34: 41-49.

GATT (1983)

International dairy arrangement. The world market for dairy products.

General Agreements on Tariffs and Trade, Geneva. 54 p.

GOMES, E.F. y KAUSHIK, S.J. (1989)

Incorporation of lupin seed meal, colzapro or triticale as protein/energy substitutes in rainbow trout diets.

Proc. Third Int. Symp. on Feeding and Nutrition in Fish. Toba, Japón. pp. 315-324.

GROOP, J.; BECK, H.; KOOPS, H. y TIEWS, K. (1979)

Rapeseed, lupine and field beans in trout diets.

Int. Counc. Explor. Sea, Maricult. Comm. F4, 17 pp.

- GROVE, D.J.; LOIZIDES, L. y NOTT J. (1978)
Station amount, frequency of feeding and gastric emptying rate in *Salmo gairdnerii*.
J. Fish Biol., 12: 507-516.
- GUINEA, J. y FERNANDEZ, F. (1991)
The effect of SDA, temperature and daily rythm on the energy metabolism of the mullet *Mugil salieus*.
Aquaculture, 97: 353-364.
- HALVER, J.E.; BATES, L.S. y MERTZ, E.T. (1964)
Protein requirements of sockeye salmon and rainbow trout.
Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 23: 1778.
- HANAOKA, T.; FURUKAWA, A. y OGASAWARA, Y. (1948)
Experiments on nutrition of fish. I. Digestibility of protein in foodstuff with different nutritive values.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 14: 219-222.
- HARDING, D.E.; ALLEN, O.W.Jr. y WILSON, R.P. (1977)
Sulfur amino acid requirement of channel catfish: L-methionine and L-cystine.
J. Nutr., 107: 2031-2035.
- HARDY, R.W. (1982)
The use of soybean meal in trout and salmon diets.
NOAA Tech. Rep. NMFS Circular, 447: 15-19.
- HARDY, R.W. (1989)
Practical Feeding - Salmon and Trout.
En: *Nutrition and Feeding of Fish* (T. Lovell, Ed.). Van Nostrand Reinhold, AVI, New York.
pp. 185-203.
- HARPER, A.E.; BENEVENGA, N.J. y WOHLHUETER, R.M. (1970)
Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids.
Physiol. Rev., 50: 428-458.
- HARPER, A.E.; MILLER, R.H. y BLOCK, K.P. (1984)
Branched-chain amino acid metabolism.
Ann. Rev. Nutr., 4: 409-454.

- HASTINGS, W.H. (1966)
Feed formulation; physical quality of pelleted feed; digestibility.
En: Progress in Sport Fisheries Res., U.S. Bur. Sport Fish. Wildl. Res. Publ., 39: 137-141.
- HENKEN, A.M.; KLEINGELD, D.W. y TIJSSEN, P.A.T. (1985)
The effect of feeding level on apparent digestibility of dietary dry matter, crude protein and gross energy in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822).
Aquaculture, 51: 1-11.
- HEPHER, B. (1988)
Nutrition of Pond Fishes.
Cambridge University Press, Cambridge. 388 pp.
- HERMAN, R.L. (1970)
Effects of gossypol on rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson.
J. Fish Biol., 2: 293-304.
- HICKLING, C.F. (1966)
On the feeding process in the white amur *Ctenopharyngodon idella*.
J. Zool. (Lond.), 148: 404-418.
- HILTON, J.W. (1983)
Potential of freeze dried worm meal as a replacement for fish meal in trout diet formulation.
Aquaculture, 32: 277-283.
- HILTON, J.W. y SLINGER, S.J. (1981)
Nutrition and feeding of rainbow trout.
Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci., 55. 15 pp.
- HILTON, J.W.; ATKINSON, J.L. y SLINGER, S.J. (1983)
Effect of increased dietary fiber on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40: 81-85.
- HIRAO, S.; YAMADA, J. y KIKUCHI, R. (1960)
On improving the efficiency of feed for fish culture. I. Transit and digestibility of diet in eel and rainbow trout observed by use of ³²P.
Bull. Tokai Regional Fish. Res. Lab., 7: 67-72.

- HOULIHAN, D.F.; McMILLAN, D.N. y LAURENT, P. (1986)
Growth rates, protein synthesis and protein degradation rates in rainbow trout: effects of body size.
Physiol. Zool., 59: 482-493.
- HUDON, B. y DE LA NOÛE, J. (1984)
Influence of meal frequency on apparent nutrient digestibility in rainbow trout, *Salmo gairdneri*.
Bull. Fr. Piscic., 293-4: 49-51.
- HUGHES, S.G. (1985)
Evaluation of glutamic acid and glycine as sources of nonessential amino acids for lake trout (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Comp. Biochem. Physiol., 81: 669-671.
- HUGHES, S.G. (1988)
Assessment of lupin flour as a diet ingredient for rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Aquaculture, 71: 379-385.
- HUGHES, S.G. (1991)
Use of lupin flour as a replacement for full-fat soy in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Aquaculture, 93: 57-62.
- HUGHES, S.G. y RUMSEY, G.L. (1983)
Dietary requirements of essential branched-chain amino acids by lake trout.
Trans. Am. Fish. Soc., 112: 812-817.
- HUGHES, S.G.; RUMSEY, G.L. y NESHEIM, M.C. (1984)
Effects of dietary excesses of branched chain amino acids on the metabolism and tissue composition of lake trout (*Salvelinus fontinalis*).
Comp. Biochem. Physiol., 78A: 413-418.
- INABA, D.; OGINO, C.; TAKAMATSU, C.; SUGANO, S. y HATA, H. (1962)
Digestibility of dietary components in fishes. I. Digestibility of dietary protein in rainbow trout.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 28: 367-371.
- INBARR, J. (1990)
Practical applications of feed enzymes.
Feed Compounder, 10: 41-49.

- IONAS, G.P. (1974)
A calculating method for determining fat content in fish.
Rybn. Khoz. Moskva, 10: 50-52.
- ISHIWATA, N. (1970)
Food consumption.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 36: 329-330.
- JACKSON, A.J.; CAPPER, B.S. y MATTY, A.J. (1982)
Evaluation of some plant proteins in complete diets for tilapia *Sarotherodon mossambicus*.
Aquaculture, 27: 97-109.
- JANY, K.D. (1976)
Studies on the digestive enzymes of the stomachless bonefish, *Carassius auratus gibelio* (Bloch.). I. Endopeptidase.
Comp. Biochem. Physiol., 53B: 31-38.
- JEONG, K.S.; TAKEUCHI, T. y WATANABE, T. (1989)
Improvement of availability to fish of carbohydrate ingredients as energy source by extrusion.
Proc. Third Int. Symp. on Feeding and Nutrition in Fish. Toba, Japón. (abstr.)
- JEPSON, M.M.; BROADBENT, P.; BATES, P.C. y MILWARD, D.J. (1988)
Relationship between glutamine concentration and protein synthesis in rat skeletal muscle.
Am. J. Physiol., 255: E166-E172.
- JOB, S.V. (1977)
Laboratory studies on fish energetics and their applications to aquaculture.
J. Madurai Univ., 6: 35-42.
- JOBLING, M. (1983)
A short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies.
J. Fish Biol., 23: 685-703.
- JOBLING, M. y DAVIES, P.S. (1980)
Effects of feeding on metabolic rate, and the specific dynamic action in plaice, *Pleuronectes platessa* L.
J. Fish. Biol., 16: 629-638.
- KAPOOR, B.G.; SMIT, H. y VERIGHINA, I.A. (1975)
The alimentary canal and digestion in teleosts.
Adv. Mar. Biol., 13: 109-239.

- KAUSHIK, S.J. (1980)
Influence of nutritional status on the daily pattern of nitrogen excretion in the carp (*Cyprinus carpio* L.) and the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.).
Reprod. Nutr. Develop., 20: 1751-1765.
- KAUSHIK, S.J. (1981)
En: *Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems* (K. Yiews, Ed.) 1. H. Heenemann GmbH and Co., Berlín. pp. 77-89. (cit. por C.Y. Cho y S.J. Kaushik, 1985).
- KAUSHIK, S.J. (1990)
Use of alternative protein sources for the intensive rearing of carnivorous fish.
En: *Mediterranean Aquaculture* (R. Flos, L. Tort y P. Torres, Eds.). Ellis Horwood Ltd., Chichester, England. pp. 125-138.
- KAUSHIK, S. y LUQUET, P. (1976)
Etude de la digestibilité des acides aminés de régimes á base de zéine chez la truite arc-en-ciel.
Ann. Hydrobiol., 7: 11-19.
- KAUSHIK, S.J. y DABROWSKI, K. (1983)
Nitrogen and energy utilization in juvenile carp fed casein, amino acids or a protein-free diet.
Reprod. Nutr. Develop., 23: 741-754.
- KAUSHIK, S.J. y FACONNEAU, B. (1984)
Effects of lysine administration on plasma arginine and on some nitrogenous catabolites in rainbow trout.
Comp. Biochem. Physiol., 79A: 459-462.
- KAUSHIK, S.J. y OLIVA-TELES, A. (1985)
Effects of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout.
Aquaculture, 50: 89-111.
- KAUSHIK, S.J.; MEDALE, F.; FAUCONNEAU, B. y BLANC, D. (1989)
Effect of digestible carbohydrates on protein/energy utilization and on glucose metabolism in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.).
Aquaculture, 79: 63-74.
- KAWAI, S. e IKEDA, S. (1973)
Studies on digestive enzymes of fishes. III. Development of the digestive enzymes of rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 819-923.

- KELLEMS, R.O. y SINNHUBER, R.O. (1982)
Performance of rainbow trout fed gelatinbound diets of fish protein concentrate of casein containing 25 to 45 percent herring oil.
Prog. Fish Cult., 44: 131-134.
- KETOLA, H.G. (1982)
Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets.
Comp. Biochem. Physiol., 73B: 17-24.
- KIM, J.D. (1989)
Comparison des valeurs nutritionnelles des nutriments énergétiques chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).
Tesis Doctoral. Univ. París. 130 pp.
- KIM, J.D. y KAUSHIK, S.J. (1992)
Contribution of digestible energy from carbohydrates and estimation of protein/energy requirements for growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Aquaculture, 106: 161-169.
- KIM, K.I.; KAYES, T.B. y AMUNDSON, C.H. (1983)
Protein and arginine requirements of rainbow trout.
Fed. Proc., 42: 2198 (abstr.).
- KIM, K.I.; KAYES, T.B. y AMUNDSON, C.H. (1991)
Purified diet development and re-evaluation of the dietary protein requirement of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Aquaculture, 96: 57-67.
- KIM, K.I.; KAYES, T.B. y AMUNDSON, C.H. (1992a)
Requirements for sulfur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Aquaculture, 101: 95-103.
- KIM, K.I.; KAYES, T.B. y AMUNDSON, C.H. (1992b)
Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Aquaculture, 106: 333-344.
- KIM, Y.K. (1974)
Determination of true digestibility of dietary protein in carp with chromic oxide containing diet.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40: 651-653.

- KITAMIKADO, M. y TACHINO, S. (1960a)
Studies on the digestive enzymes of rainbow trout. II. Proteases.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 26: 685-690.
- KITAMIKADO, M. y TACHINO, S. (1960b)
Studies on the digestive enzymes of rainbow trout. III. Esterases.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 26: 691-694.
- KITAMIKADO, M. y TACHINO, S. (1960c)
Studies on the digestive enzymes of rainbow trout. I. Carbohydrases.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 26: 679-684.
- KITAMIKADO, M.; MORISHITA, T. y TACHINO, S. (1964)
Digestibility of dietary protein in rainbow trout. II. Effect of starch and oil contents in diets and size of fish.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 30: 50-54.
- KLEIBER, M. (1975)
The fire of life
R.E. Kleiber Publ. Co. New York. 453 p.
- KLEKOWSKI, R.Z. y DUNCAN, A. (1975)
Physiological approach to ecological energetics.
En: *Methods for ecological bioenergetics, IBP Handbook* (W. Godzinski, R.Z. Klekowski y A. Duncan, Eds.). Blackwell Sci. Publ. No 24, Oxford. pp. 227-257.
- KNAUTHE, K. (1898)
Untersuchungen ueber Verdauung und Stoffwechsel der fische.
Z. Fisch., 6: 139.
- KOLKOVSKI, S.; TANDLER, A. y KISSIL, G.Wm. (1991)
The effect of dietary enzymes with age on protein and lipid absorption and deposition in *Sparus aurata* larvae.
Proc. IV Int. Symp. on Fish Nutrition and Feeding. Biarritz, Francia. (abstr.)
- KOVEN, W.M.; KOLKOVSKI, S.; TANDLER, A.; KISSIL, G.Wm. y SKLAN, D. (1991)
The effect of dietary lecithin and exogenous lipases on fatty acid incorporation in the tissue lipids of *Sparus aurata* larvae.
Proc. IV Int. Symp. on Fish Nutrition and Feeding. Biarritz, Francia. (abstr.)

- KROGDAHL, A. (1989)
Alternative protein sources from plant contain antinutrients affecting digestion in salmonids.
Proc. Third Int. Symp. on Feeding and Nutrition in Fish. Toba, Japan. pp. 253-261.
- KUZ'MINA, V.V. y NEVALENNYY, A.N. (1983)
Effect of hydrogen concentration on the activity of some carbohydrases on the fish digestive tract.
J. Ichthyol., 23: 114-123.
- LAARMAN, P.W. (1969)
Effects of limited food supply on growth rates of coho salmon and steelhead trout.
Trans. Am. Fish. Soc., 98: 393-397.
- LALL, S.P. (1979)
Minerals in finfish nutrition.
En: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver y K. Tiews Eds.), vol. I. Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 85-97.
- LARSEN, P.C. y SNIEZSKO, S.F. (1961)
Comparison of various methods of determination of haemoglobin in trout blood.
Prog. Fish Cult., 23: 8-17.
- LEE, D.J. y PUTNAM, G.B. (1973)
The responses of rainbow trout varying protein/energy ratios in a test diet.
J. Nutr., 103: 916-922.
- LEGER, C. (1972)
Essay de purification de la lipase du tissu intercaecal de la truite (*Salmo gairdnerii*, Rich.).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1: 341-345.
- LEGER, C.; BAUCHART, T. y FLANCY, J. (1977)
Some properties of pancreatic lipase in *Salmo gairdnerii* Rich.: km, effects of bile salts and Ca²⁺, gel filtrations.
Comp. Biochem. Physiol., 57B: 359-363.
- LI, M. y LOVELL, R. (1992)
Comparison of satiate feeding and restricted feeding of channel catfish with various concentrations of dietary protein in production ponds.
Aquaculture, 103: 165-175.

- LIEBOWITZ, H.E. (1981)
Replacing fish meal with soybean in practical catfish diets.
Tesis Doctoral. Univ. Auburn. Auburn AL. 215 p.
- LIED, E.; JULSHAMN, K. y BRAEKKAN, O.R. (1982)
Determination of protein digestibility in Atlantic cod (*Gadus morhua*) with internal and external indicators.
Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39: 854-861.
- LIENER, I.E. (1958)
Effect of heat on plant proteins.
En: *Processed Plant Protein Foodstuffs* (A.M. Altschul, Ed.). Academic Press Inc., New York. pp. 79-129.
- LOVELL, R.T. (1977)
Digestibility of nutrients in feedstuffs for catfish.
En: *Nutrition and Feeding of Channel Catfish* (R.R. Stickney y R.T. Lovell, Eds.). South. Coop. Ser. Bull., 218. Auburn, Alabama. pp. 33-37.
- LOVELL, R.T. (1984)
Use of soybean products in diets for aquaculture species.
Res. Highlights, Amer. Soybean Assoc., February.
- LOVELL, T. (1989)
Nutrition and Feeding of fish.
Van Nostrand Reinhold, New York. 260 pp.
- LUQUET, P. (1971)
Efficacité des protéines en relation avec leur taux d'incorporation dans l'alimentation de la truite arc-en-ciel.
Ann. Hydrobiol., 2: 175-186.
- LUQUET, P. y BERGOT, F. (1976)
Evaluation de divers traitements technologiques des céréales. VII. Utilization de maïs pressé, floconné, expansé et extrudé dans l'alimentation de la truite arc en ciel.
Ann. Zootech., 25: 63-69.
- MAcLEOD, M.G. (1977)
Effects of salinity on food intake, absorption and conversion in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*.
Mar. Biol., 43: 93-102.

- MANN, H. (1948)
Bedeutung der Zerkleinerung der Futtermittel fuer die Ausnutzung der Naehrstoffe durch Karpfen.
Allg. Fisch.-Ztg., 73: 703-705.
- MARAIS, J.J.K. y KISSIL, G.W. (1979)
The influence of energy level on the food intake, growth and food conversion and composition of *Sparus aurata*.
Aquaculture, 17: 203-219.
- MARTINEZ, C.A. (1986)
Advances in the substitution of fish meal and soybean meal by sunflower meal in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.).
Ann. Inst. Cien. Mar. y Limn. Univ. Auton. Mexico, 13: 345-352.
- MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F. y WARNER, R.G. (1979)
Animal Nutrition.
Mc Graw-Hill, New York. 602 pp.
- MAZID, M.A.; TANAKA, Y.; KATAYAMA, T.; SIMPSON, K.L. y CHICHESTER, C.O. (1978)
Metabolism of amino acids in aquatic animals. III. Indispensable amino acids for *Tilapia zilli*.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44: 739-742.
- MIRONOVA, N.V. (1976)
Changes in the energy balance of *Tilapia mossambica* in relation to temperature and ration size.
J. Ichthyol., 16: 120-129.
- MOON, H.Y. y GATLIN, D.M. (1991)
Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*.
Aquaculture, 95: 97-106.
- MORGULIS, S. (1918)
Studies on the nutrition of fish. Experiments on brook trout.
J. Biol. Chem., 36: 391-413.
- MORIARTY, D.J.W. (1973)
The physiology of digestion of blue-green algae in the cichlid fish, *Tilapia nilotica*.
J. Zool. (Lond.), 171: 25-39.

- MOYANO, F.J. (1990)
Utilización nutritiva de fuentes proteicas vegetales por la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss).
Tesis Doctoral. Univ. Granada. Granada, España. 236 pp.
- MOYANO, F.J.; CARDENETE, G. y DE LA HIGUERA, M. (1991)
Nutritive and metabolic utilization of proteins with high glutamic acid content by the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
Comp. Biochem. Physiol., 100A: 759-762.
- MOYANO, F.J.; CARDENETE, G. y DE LA HIGUERA, M. (1992)
Nutritive value of diets containing a high percentage of vegetable proteins for trout, *Oncorhynchus mykiss*.
Aquat. Living Resour., 5: 23-29.
- MUNILLA-MORAN, R.; STARK, J.R. y BARBOUR, A. (1990)
The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae *Scophthalmus maximus*.
Aquaculture, 88: 337-350.
- MURAI, T. (1992)
Protein nutrition of rainbow trout.
Aquaculture, 100: 191-207.
- MURAI, T.; AKIYAMA, T. y NOSE, T. (1981)
Use of crystalline amino-acids coated with casein in diets for carp.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 47: 523-527.
- MURAI, T.; OGATA, H.; TAKEUCHI, T.; WATANABE, T. y NOSE, T. (1984)
Composition of free amino acid in excretion of carp fed amino acid diet and casein-gelatin diets.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 50: 1957-1965.
- MURRAY, M.G. (1982)
Replacement of fish meal with soybean meal in diets to channel catfish in ponds.
Tesis Doctoral. Univ. Auburn. Auburn AL. 245 p.
- NAGASE, G. (1964)
Contribution to physiology of digestion in *O. mossambica* Peters: digestive enzymes and effects of diets on their activity.
Z. Vergl. Physiol., 49: 270-284.

- NAGAYAMA, F. y SAITO, Y. (1968)
Distribution of amilase, and glucosidase, and galactosidase in fish.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 34: 944-949.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1981)
Nutrient Requirements of Coldwater Fishes.
National Academy Science. Washington, D.C. 63 pp.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1983)
Nutrient Requirements of Warmwater fishes and Shellfishes.
National Academy Science. Washington, D.C. 102 pp.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1991)
Nutrient Requirements of fish.
National Academy Science. Washington, D.C.
- NEHRING, D. (1965)
Die ausnutzung verschiedener getreidearten und hülsefrüchte durch karpfen.
Z. Fischerei N.F., 13: 181-190.
- NIIMI, A.J. y BEAMISH, F.W.H. (1974)
Bioenergetics and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in realltion to body weight and temperature.
Can. J. Zool., 52: 447-456.
- NJAA, L.R. (1961)
Determination of protein digestibility with titanium dioxide as indicator substance.
Acta Agricult. Scand., 11: 227-241.
- NJAA, L.R.; UTNE, F. y BREAKKAN, O.R. (1966)
Affect of BHT (Butylated hydroxytoluene) on the protein value of herring meal for the young rat.
FiskDir. Skr. Ser. Tekn. Undersok., 5: 1-12.
- NORDLIE, F. (1966)
Thermal acclimation and peptic digestive capacity in the black bullhead *Ictalurus melas* (Raf.).
Am. Midl. Nat., 75: 416-424.

- NOSE, T. (1960)
On the digestion of food protein by goldfish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* g.).
Bull. Freshwat. Fish. Res. Lab., Tokyo, 10: 11-22.
- NOSE, T. (1963)
Determination of nutritive value of food protein in fish. II. Effect of amino acid composition of high protein diets on growth and protein utilization of the rainbow trout.
Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. Tokyo, 13: 41-50.
- NOSE, T. (1967)
Recent advances in the study of fish digestion in Japan.
FAO/EIFAC Tech. Pap., 3: 83-94.
- NOSE, T. (1971)
Determination of nutritive value of food protein in fish: III. Nutritive value of casein, whitefish meal and soybean meal in rainbow trout fingerlings.
Bull. Freshwat. Fish. Res. Lab. Tokyo, 21: 85-98.
- OFOJEKWU, P.C. y EJIKE, C. (1984)
Growth response and feed utilization in the tropical cichlid *Oreochromis niloticus* (Linn.) fed on cotton seed-based diets.
Aquaculture, 42: 27-36.
- OGINO, C. (1980)
Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46: 171-174.
- OGINO, C. y CHEN, M.S. (1973a)
Protein nutrition in fish. 3. Apparent and true digestibility of dietary proteins in carp.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 649-651.
- OGINO, C. y CHEN, M.S. (1973b)
Protein nutrition in fish. 4. Biological value of dietary proteins in carp.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 797-800.
- OGINO, C. y NANRI, H. (1980)
Relationship between the nutritive value of dietary proteins for rainbow trout and the essential amino acid compositions.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46: 109-112.

- OGINO, C.; KAKINO, J. y CHEN, M.S. (1973)
Protein nutrition in fish. II. Determination of metabolic fecal nitrogen and endogenous nitrogen excretions of carp.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 519-523.
- OGINO, C.; CHIOU, J.Y. y TAKEUCHI, T. (1976)
Protein nutrition in fish. VI. Effects of dietary energy sources on the utilization of proteins by rainbow trout and carp.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42: 213-218.
- O'HARA, J. (1971)
A continuously monitored respiration chamber for fish.
Water Res. Pergamon Press, 5: 143-145.
- OLLI, J.; KROGDHAL, A. y BERG-LEA, T. (1989)
Effects of trypsin inhibitor activity on nutrient digestibility in salmonids fed practical diets containing various soybean meals.
Proc. Third Int. Symp. on Feeding and Nutrition in Fish. Toba, Japón. pp. 263-271.
- OPSTVEDT, J. (1974)
Influence of lipids on the nutritive value of fish meal VI. Effect of fat addition to diets high in fish meal on fatty acid composition and flavor quality of broiler meat.
Acta Agric. Scand., 24: 62-67.
- OVERNELL, J. (1973)
Digestive enzymes of the pyloric caeca and of their associated mesentery in the cod (*Gadus morhua*).
Comp. Biochem. Physiol., 46B: 519-531.
- PALMER, T.N. y RIMAN, B.E. (1972)
Studies on oral glucose intolerance in fish.
J. Fish. Biol., 4: 311-319.
- PAREDES-LOPEZ, O. (1991)
Safflower proteins for food use.
En: *Developments in food protein - 7* (B.J.F. Hudson, Ed.) Elsevier Applied Science, New York. pp. 1-33.

- PATTON, J.S.; NEVENZEL, J.C. y BENSON, A.A. (1975)
Specificity of digestive lipases in hydrolysis of wax esters and triglycerides studied in anchovy and other selected fish.
Lipid, 10: 575-583.
- PATTON, J.S.; WARNER, T.G. y BENSON, A.A. (1977)
Partial characterization of the bile salt-dependent triacylglycerol lipase from leopard shark pancreas.
Biochem. Biophys. Acta, 486: 322-330.
- PETRASCH, R. y PFEFFER, E. (1982)
Studies with rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) on the optimum level of dietary protein and on the utilization of casein.
Arch. Tierernähr., 32: 563-568.
- PFEFFER, E. (1982)
Utilization of dietary protein by salmonid fish.
Comp. Biochem. Physiol., 73B: 25-41.
- PFEFFER, E.; PETRASCH, R. y ECKHARDT, O. (1980)
Untersuchungen über mögliche protein und fettträger in gereinigten diäten für regenbogenforellen (*Salmo gairdneri* R.).
Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd., 43: 254-263.
- PHILLIPS, A.M. (1969)
Nutrition, digestion and energy.
En: *Fish Physiology. I. Excretion, ionic regulation, and metabolism* (W.S. Hoar y D.J. Randall, Eds.). Academic Press, New York. pp. 391-423.
- PHILLIPS, A.M. (1970)
Trout feeds and feeding.
En: *Manual of Fish Culture*. Part. 3, Chap. 5. Bur. Sport Fish. Wildl., Washington, D.C.
- PHILLIPS, A.M. (1972)
Calorie and energy requirement.
En: *Fish Nutrition* (J.E. Halver, Ed.). Academic Press, New York. pp. 1-28.
- PHILLIPS, A.M. y BROCKWAY, D.R. (1959)
Dietary calories and the production of trout in hatcheries.
Prog. Fish Cult., 21: 3-16.

- PHILLIPS, A.M.; TUNISON, A.V. y BROCKWAY, D.R. (1948)
The utilization of carbohydrate by trout.
Fish. Res. Bull. N.Y., 11: 1-44.
- PIEPER, A. y PFEFFER, E. (1979)
Carbohydrates as possible sources of dietary energy for rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson).
En: *Finfish nutrition and fishfeed technology* (J.E. Halver y K. Tiews, Eds.), vol. I. Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 209-219.
- PIEPER, A. y PFEFFER, E. (1980a)
Studies on the comparative efficiency of utilization of gross energy from some carbohydrates, protein and fats by rainbow trout (*Salmo gairdneri*, R.).
Aquaculture, 20: 323-332.
- PIEPER, A. y PFEFFER, E. (1980b)
Studies on the effect of increasing proportions of sucrose or gelatinized maize starch in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*, R.).
Aquaculture, 20: 333-342.
- PIERCE, R.J. y WISSING, T.E. (1974)
Energy cost of food utilization in the bluegill.
Trans. Am. Fish. Soc., 103: 38-45.
- PIKE, I.H.; ANDORSOTTIR, G. y MUNDHEIM, H. (1990)
The role of fish meal in diets for salmonids.
IAFMM Tech. Bull., 24, 35 pp.
- PLAKAS, S.M.; KATAYAMA, Y.; TANAKA, Y. y DESHIMARU, O. (1980)
Changes in the levels of circulating plasma free amino acids of carp (*Cyprinus carpio*) after feeding a protein and a amino acid diet of similar composition.
Aquaculture, 21: 307-322.
- POSSOMPES, B.P. (1973)
Influence de la température sur les besoins en protéines, le transit alimentaire et la digestibilité chez la Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri* Richardson.
Tesis Doctoral. Universidad de París VI. París, Francia. 58 pp.
- PULLAR, J.D. y WEBSTER, A.J.F. (1977)
The energy cost of fat and protein deposition in the rat.
Br. J. Nutr., 37: 355-363.

- RAVI, J. y DEVARAJ, K.V. (1991)
Quantitative essential amino acids requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton).
Aquaculture, 96: 281-291.
- REFSTIE, T. y AUSTRENG, E. (1981)
Carbohydrate in rainbow trout diets. III. Growth and chemical composition of fish from different families fed four levels of carbohydrate in the diet.
Aquaculture, 25: 35-49.
- REIGH, R.C.; BRADEN, S.L. y CRAIG, R.J. (1990)
Apparent digestibility coefficients for common feedstuffs in formulated diets for red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*.
Aquaculture, 84: 321-334.
- REINITZ, G. (1983)
Supplementation of rainbow trout starter diets with proteolytic enzyme formulas.
Feedstuffs, 21, Noviembre 1983.
- RIBADEAU-DUMAS, B. (1981)
Actualités dans le domaine de la connaissance de la structure et des propriétés biochimiques des protéines laitières.
Rev. Lait. Franç., 400: 17-32.
- RINGLER, N.H. (1979)
Selective predation by drift-feeding brown trout, *Salmo trutta*.
J. Fish. Res. Bd. Can., 26: 392-403.
- RISSE, S. (1971)
Enzymatic changes in the intestinal tract due to differences in the supply of amino acids in food.
Nahrung, 15: 295-305.
- ROBINSON, E.H. y DANIELS, W.H. (1987)
Substitution of soybean meal with cottonseed meal in pond feeds for channel catfish reared at low densities.
J. World Aquacult. Soc., 18: 101-106.
- ROBINSON, E.H.; WILSON, R.P. y POE, W.E. (1980)
Total aromatic amino acid requirement, phenylalanine requirement and tyrosine replacement value for fingerling channel catfish.
J. Nutr., 110: 1805-1812.

- ROBINSON, E.H.; WILSON, R.P. y POE, W.E. (1981)
Arginine requirements and apparent absence of a lysine-arginine antagonist in fingerling channel catfish.
J. Nutr., 111: 46-52.
- ROBINSON, E.H.; RAWLES, S.D. y STICKNEY, R.R. (1984a)
Evaluation of glanded and glandless cotton seed products in catfish diets.
Prog. Fish Cult., 46: 92-97.
- ROBINSON, E.H.; RAWLES, S.D.; OLDENBURG, P.W. y STICKNEY, R.R. (1984b)
Effects of feeding glandless or glanded cotton seed products and gossypol to *Tilapia aurea*.
Aquaculture, 38: 145-154.
- ROBINSON, E.H.; POE, W.E. y WILSON, R.P. (1984c)
Effect of feeding diets containing an imbalance of branched-chain amino acids on fingerling channel catfish.
Aquaculture, 37: 51-62.
- ROSELUND, G. y UTNE, F. (1981)
Bindemidler i vatfôr til Fisk.
Fiskedirektoratets Vitamininstitut, Bergen. 56 pp.
- ROUBAL, W.T. y TAPPEL, A.L. (1966)
Polymerization of proteins induced by free-radical lipid peroxidation.
Archs. Biochem. Biophys., 113: 150-155.
- ROZIN, P. y MAYER, J. (1961)
Regulation of food intake in the goldfish.
Am. J. Physiol., 201: 968-974.
- RUMSEY, G.L. y KETOLA, H.G. (1975)
Amino acid supplementation of casein in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry and of soybean meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings.
J. Fish. Res. Bd. Can., 32: 422-426.
- SANTIAGO, C.B. y LOVELL, R.T. (1988)
Amino acid requirements for growth of Nile tilapia.
J. Nutr., 118: 1540-1546.

- SASTRY, K.V. (1974)
Distribution of lipase in the digestive system of two teleost fishes.
Acta Histochem., 48: 320-325.
- SATIA, B.P. (1974)
Quantitative protein requirements of rainbow trout.
Prog. Fish Cult., 36: 80-85.
- SCERBINA, M.A. (1973)
Perevarimost i effektivnost ispol'zovanija pitatel'nykh vescestv iskusstvennykh kormov u karpa.
Piscevaja proslennost, Moskau.
- SCHLOTTKE, E. (1938-9)
The change in the enzyme strength in the intestine of carp during digestion.
Sitzbar. Abhdl. Naturforsch. Ges. Rostoch., 7: 27:88.
- SCHULZ, D.; HARTFIEL, W. y GREUEL, E. (1982)
Verwendung von nebenprodukten tierischer herkunft in der ernährung von regenbogenforellen (*Salmo gairdneri* R.). II. Einsatz von blut-, feder- und geflügelschlachtabfallmehl sowie gelatine in einer gereinigten diät.
Z. Tierphysiol., Tierernähr. Futtermittelkd., 48: 267-275.
- SCHWARZ, F.J. y KIRCHGEBNER, M. (1982)
Zur bestimmung der nährstoffverdaulichkeit beim karpfen (*Cyprinus carpio* L.). 1. Mitteilung
Aquarienaufbau und versuchsmethodik.
Bayer. Landwirtsch. Jahrb., 59: 79-84.
- SHCHERBINA, M.A. y KAZLAUSKENE, O.P. (1971)
Water temperature and the digestibility of nutrient substances by carp.
Hydrobiol. Jour. (SSSR), 7: 40-44.
- SHIMIZU, C.; IBRAHIM, A.; TOKORO, T. y SHIRAKAWA, Y. (1990)
Feeding stimulation in sea bream, *Pagrus major*, fed diets supplemented with Antarctic krill meals.
Aquaculture, 89: 43-53.
- SINGH, R.P. y NOSE, T. (1967)
Digestibility of carbohydrates in young rainbow trout.
Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., 17: 21-25.

- SIRE, M.F. y VERNIER, J.M. (1992)
Intestinal absorption of protein in teleost fish.
Comp. Biochem. Physiol., 103A: 771-781.
- SMAGULA, E.M. y ADELMAN, I.R. (1982)
Day-to-day variation in food consumption by largemouth bass.
Trans. Am. Fish. Soc., 111: 543-548.
- SMIT, H. (1967)
Influence of temperature on the rate of gastric juice secretion in the brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*).
Comp. Biochem. Physiol., 21: 125-132.
- SMITH, A.K. (1958)
Vegetable protein isolates.
En: *Processed Plant Protein Foodstuffs* (A.M. Altschul, Ed.). Academic Press, New York. pp. 249-276.
- SMITH, B.W. y LOVELL, R.T. (1971)
Digestibility of nutrients in semi-purified rations by channel catfish in stainless steel troughs.
Proc. Ann. Conf. Southeast. Assoc. Game Fish Commrs., 25: 452-459.
- SMITH, B.W. y LOVELL, R.T. (1973)
Determination of apparent protein digestibility in feeds for channel catfish.
Trans. Am. Fish. Soc., 102: 831-835.
- SMITH, D.A y HARPER, A.E. (1983)
Partial replacement of dietary protein for rainbow trout with single or incomplete mixtures of amino acids.
Fed. Proc., 42: 310.
- SMITH, R.R. (1971)
A method for measuring digestibility and metabolizable energy of fish feeds.
Prog. Fish Cult., 33: 132-134.
- SMITH, R.R.; RUMSEY, G.L. y SCOTT, M.L. (1978a)
Heat increment associated with dietary protein, fat and carbohydrate and complete diets in salmonids: Comparative energetic efficiency.
J. Nutr., 108: 1025-1032.

- SMITH, R.R.; RUMSEY, G.L. y SCOTT, M.L. (1978b)
Net energy maintenance requirement of salmonids as measured by direct calorimetry: Effect of body size and environmental temperature.
J. Nutr., 108: 1017-1024.
- SMITH, R.R.; PETERSON, M.C. y ALLRED, A.N. (1980)
Effect of leaching on apparent digestion coefficients of feedstuffs for salmonids.
Prog. Fish Cult., 42: 195-199.
- SOLOMON, D.J. y BRAFIELD, A.E. (1972)
The energetics of feeding metabolism and growth of perch (*Perca fluviatilis* L.)
J. Anim. Ecol., 41: 699-718.
- SPANNHOF, L. y PLATIKOW, H. (1983)
Studies on carbohydrate digestion in rainbow trout.
Aquaculture, 33: 95-108.
- SPINELLI, J.; MAHNKEN, C. y STEINBERG, M. (1979)
Alternative sources of proteins for fish meal in salmon diets.
En: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver y K. Tiews Eds.), vol. II.
Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 131-142.
- SPYRIDAKIS, P.; METAILLER, R.; GABAUDAN, J. y RIAZA, A. (1989a)
Studies on nutrient digestibility in european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). 1. Methodological aspects concerning faeces collection.
Aquaculture, 77: 61-70.
- SPYRIDAKIS, P.; METAILLER, R. y GABAUDAN, J. (1989b)
Studies on nutrient digestibility in european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). 2. Effect of sodium alginate on protein and lipid digestibility.
Aquaculture, 77: 71-73.
- STAFFORD, E.A. y TACON, A.G.J. (1985)
The nutritional evaluation of dried earthworm meal (*Eisenia foetida*), included at low levels in production diets for rainbow trout *Salmo gairdneri*.
Aquacult. Fish. Manag., 16: 213-222.
- STEFFENS, W. (1987)
Principios fundamentales de la alimentación de los peces.
Ed. ACRIBIA S.A., Zaragoza. 267 pp. (Trad. Castellano)

- STEFFENS, W. y ALBRETCH, M.L. (1982)
Krillmehl als eimeibquelle im fishcfutter. 4. Mitt. krillmehl als alleinige tierische eiweibquelle bei der karpfenaufzucht.
Z. Binnenfischerei DDR, 29: 79-83.
- STIRLING, H.P. (1976)
Effects of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass *Dicentrarchus labrax*.
Mar, Biol., 34: 85-91.
- STIRLING, H.P. (1977)
Growth, food utilization and effect of social interaction in the European bass *Dicentrarchus labrax*.
Mar. Biol., 40: 173-184.
- STOREBAKKEN, T. (1985)
Binders in fish feeds I. Effect of alginate and guar gum on growth, digestibility, feed intake and passage through the gastrointestinal tract of rainbow trout.
Aquaculture, 47: 11-26.
- STOREBAKKEN, T. y AUSTRENG, E. (1987)
Binders in fish feeds II. Effect of different alginates on the digestibility of macronutrients in rainbow trout.
Aquaculture, 60: 121-131.
- SWARUP, C. y GOEL, K.A. (1975)
Histochemical study of the activity of lipase in the digestive system of some teleost fishes.
Acta Histochem., 54: 10-15.
- TACON, A.G.J. y RODRIGUEZ, A.M.P. (1984)
Comparison of chromic oxide, crude fibre polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout.
Aquaculture, 43: 391-399.
- TACON, A.G.J. y JACKSON, A. (1985)
Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds.
En: *Nutrition and Feeding in Fish* (C.B. Cowey, A.M. Mackie y J.G. Bell, Eds.). Academic Press, London. pp. 119-145.

- TACON, A.G.J.; STAFFORD, E.A. y EDWARDS, C.A. (1983a)
A preliminary investigation of the nutritive value of three lumbricid worms for rainbow trout.
Aquaculture, 35: 187-199.
- TACON, A.G.J.; HAASTER, J.V.; FEATHERSTONE, P.B.; KERR, K. y JACKSON, A.J. (1983b)
Studies on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soy bean in a complete diet for rainbow trout.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49: 1437-1443.
- TACON, A.G.J.; WEBSTER, J.L. y MARTINEZ, C.A. (1984)
Use of solvent extracted sunflower seed meal in complete diets for fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson).
Aquaculture, 43: 381-389.
- TAGUE, E.L. (1926)
Casein, its preparation, chemistry and technical utilization.
Constable and Company, London, Bombay, Sydney. 218 pp. (cit. por Asgard y Austreng, 1985b).
- TAKEUCHI, T. y WATANABE, T. (1977)
Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid requirement of rainbow trout.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43: 893-898.
- TAKEUCHI, T. y WATANABE, T. (1979)
Effect of excess amounts of essential fatty acids on growth of rainbow trout.
Bull. Jap. Soc. Sci., 45: 1517-1519.
- TALBOT, C. (1985)
Laboratory methods in fish feeding and nutritional studies.
En: *Fish Energetics: New Perspectives* (Tytler, P. y Calow, P., Eds.). Croom Helm Ltd., London. pp. 125-154.
- TESHIMA, S.; KANAZAWA, S. y KOSHIO, S. (1987)
Effects of feeding rate, fish size, and dietary protein and cellulose levels on the growth of *Tilapia nilotica*.
Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 36: 7-15.
- THEBAULT, H. (1983)
Etude du besoin en methionine chez le loup, *Dicentrarchus labrax*, en milieu controlé.
Tesis Doctoral. Univ. Marsella. Francia.

- TIEWS, K.; KOOPS, H.; GROOP, J. y BECK, H. (1979)
Compilation of fish meal-free diets obtained in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) feeding experiments at Hamburg (1970-1977/78).
En: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver y K. Tiews Eds.), vol. II. Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 219-228.
- TROFIMOVA, L.N. (1973)
Dynamics of total proteolytic activity along the digestive tract in carp in relation to incubation temperature.
Sb. Nauch. Tr. VNIIPRKH, 10: 170-181.
- TUNISON, A.V.; PHILLIPS, A.M.; McCAY, C.M.; MITCHELL, C.R. y RODGERS, E.O. (1939)
Carbohydrate utilization by trout.
Cortland Hatchery Report, 8: 9-12.
- TUNISON, A.V.; BROCKWAY, D.R.; MAXWELL, J.M.; DORR, A.L. y McCAY, C.M. (1942)
The nutrition of trout.
Fish. Res. Bull., 4: 1-51.
- TUNISON, A.V.; BROCKWAY, D.R.; SHAFFER, H.B.; MAXWELL, J.M.; McCAY, C.M.; PALM, C.E. y WEBSTER, D.A. (1943)
The nutrition of trout.
Cortland Hatchery Report 12, Fish. Res. Bull., 5.
- TUNISON, A.V.; PHILLIPS, A.M.; SHAFFER, H.B.; MAXWELL, J.M.; BROCKWAY, D.R. y McCAY, C.M. (1944)
The nutrition of trout.
Cortland Hatchery Report 13, Fish. Res. Bull., 6.
- TWINING, S.S.; ALEXANDER, P.A.; HUIBREGTSE, K. y GLICK, D.M. (1983)
A pepsinogen from rainbow trout.
Comp. Biochem. Physiol., 75B: 109-112.
- UCHIDA, N.; OBATA, T. y SAITO, T. (1973)
Occurrence of inactive precursors of proteases in chum salmon pyloric caeca.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 825-828.

- USHIYAMA, H.; FUJIMORI, T.; SHIBATA, T. y YOSHIMURA, K. (1965)
Studies on carbohydrases in pyloric caeca of the salmon, *Oncorhynchus keta*.
Bull. Hokkaido Univ. Fish., 16: 183-188.
- UYS, W.; HECHT, T. y WALTERS, M. (1987)
Changes in digestive enzyme activities of *Clarias gariepinus* (Pisces: Claridae) after feeding.
Aquaculture, 63: 243-250.
- VAN WAVERSVELD, J.; ADDINK, A.D.F.; VAN DEN THILLART, G. y SMITH, H. (1988)
Anaerobic heat production measurements: a new perspective.
J. Exp. Biol., 138: 529-533.
- VENS-CAPPELL, B. (1984)
The effect of extrusion and pelleting of feed for trout on the digestibility of protein, amino-acids and energy and on feed conversion.
Aquacult. Eng., 3: 71-89.
- VENS-CAPPELL, B. (1985)
Methodical studies on digestion in trout. I. Reliability of digestion coefficients in relation to methods for faeces collection.
Aquacult. Eng., 4: 33-49.
- VERGARA, J.M. (1992)
Studies on the utilization of dietary protein and energy by gilthead sea bream (Sparus aurata L.).
Tesis Doctoral. Univ. Stirling. Stirling, Scotland. 162 pp.
- VIÑARAS, R.; HERRERO DE FRUTOS, V.; RUPEREZ, J. y CABALLERO, R. (1987)
Segundo experimento de alimentación en crecimiento cebo con semilla de altramuz en sustitución de soja. Comprobación de resultados en credos trihíbridos comerciales.
A.Y.M.A., 27: 1-14.
- VIOLA, S.; ARIELI, Y. y ZOHAR, G. (1989)
Unusual feedstuffs (tapioca and lupin) as ingredients for carp and tilapia feeds in intensive aquaculture.
J. Aquacult. Bamidgh., 40: 29-34.
- WALTON, M.J. (1985)
Intracellular distribution of tricarboxylic enzymes in liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Comp. Biochem. Physiol., 82B: 87-90.

- WALTON, M.J. y COWEY, C.B. (1982)
Aspects of intermediary metabolism in fish.
Comp. Biochem. Physiol., 73B: 59-72.
- WALTON, M.J.; COWEY, C.B.; COLOSO, R.M. y ADRON, J.W. (1986)
Dietary requirements of rainbow trout for tryptophan, lysine and arginine as determined by growth and biochemical measurements.
Fish Physiol. Biochem., 2: 161-169.
- WATANABE, T. (1982)
Lipid nutrition in fish.
Comp. Biochem. Physiol., 73B: 1-15.
- WATANABE, T. (1987)
Requerimientos de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces.
En: *Nutrición en Acuicultura* (J.E. Espinosa de los Monteros y U. Labart, Eds.), vol. II. Plan Form. Tec. Sup. Acuic. CAYCIT, Madrid. pp. 99-165.
- WATANABE, T.; OGINO, C.; KOSHIISHI, Y. y MATSUNAGA, T. (1974)
Requirement of rainbow trout for essential fatty acids.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40: 493-497.
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T. y OGINO, C. (1979)
Studies on the sparing effect of lipids on dietary protein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
En: *Finfish nutrition and fishfeed technology* (J.E. Halver y K. Tiews, Eds.), vol. I. Heenemann Verlagsgesel, Berlín. pp. 113-125.
- WATANABE, T.; KOIZUMI, T.; SUZUKI, H.; SATOH, S.; TAKEUCHI, T.; YOSHIDA, N.; KITADA, T. y TSUKASHIMA, Y. (1983)
Ann. Meet. Jap. Soc. Sci. Fish., p. 91 (abstr.). (citado por C.Y. Cho y S.J. Kaushik, 1985).
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; SATOH, S.; IDA, T. y YAGUCHI, M. (1987)
Development of low protein-high energy diets for practical carp culture with special reference to reduction of total nitrogen excretion.
Nipp. Suis. Gakk., 53: 1413-1423.
- WEATHERLEY, A.H. y GILL, H.S. (1983)
Protein, lipid, water and caloric contents of immature rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson growing at different rates.
J. Fish Biol., 23: 653-674.

- WEISBERG, S.B. y LOTRICH, V.A. (1982)
Ingestion, egestion, excretion, growth, and conversion efficiency for the mummichog, *Fundulus heteroclitus*.
J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 62: 237-250.
- WINBERG, G.G. (1971)
Methods for the estimation of production of aquatic animals.
Academic Press, London. 157 pp.
- WINDELL, J.T.; FOLTZ, J.W. y SAROKON, J.A. (1978)
Effect of fish size, temperature and amount fed on nutrient digestibility of a pelleted diet by rainbow trout *Salmo gairdneri*.
Trans. Am. Fish. Soc., 107: 613-616.
- WOOTTON, R.J.; ALLEN, J.R.M. y COLE, S.J. (1980)
Effects of body weight and temperature on the maximum daily food consumption of *Gasterosteus aculeatus* L. and *Phoxinus phoxinus* (L.): selecting an appropriate model.
J. Fish Biol., 17: 695-705.
- YAMADA, J.; KIKUCHI, R.; MATSUSHIMA, M. y OGAMI, H. (1962)
On improving the efficiency of feed for fish culture. 2. Digestibilities of feedstuffs for rainbow trout and some trials on the improvement.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 28: 905-908.
- YAMANE, S. (1973a)
Localization of amylase activity in digestive organs of carp determined by a substrate film method.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 497-504.
- YAMANE, S. (1973b)
Localization of amylase activity in the digestive organs of the Mozambique mouth brooder *Tilapia mossambica*, and bluegill *Lepomis macrochirus* determined by a starch substrate film method.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 595-603.
- YOSHINAKA, R.; SATO, M. e IKEDA, S. (1981a)
In vitro activation of trypsinogen and chymotrypsinogen in the pancreas of catfish.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 47: 1473-1478.

- YOSHINAKA, R.; SATO, M. e IKEDA, S. (1981b)
Distribution of trypsin and chymotrypsin and their zymogens in digestive system of catfish.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 47: 1615-1618.
- YOSHINAKA, R.; TANAKA, H.; SATO, M. e IKEDA, S. (1982)
Purification and some properties of elastase from the pancreas of catfish.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48: 573-579.
- YU, T.C. y SINNHUBER, R.O. (1976)
Growth response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to dietary ω 3 and ω 6 fatty acids.
Aquaculture, 8: 309-317.
- YU, T.C. y SINNHUBER, R.O. (1979)
Effect of dietary ω 3 and ω 6 fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).
Aquaculture, 16: 31-38.
- ZAMORA, S. y ECHEVARRIA, G. (1987)
Los hidratos de carbono en la nutrición de los peces.
En: *Nutrición en Acuicultura* (J.E. Espinosa de los Monteros y U. Labart, Eds.), vol. II. Plan Form. Tec. Sup. Acuic. CAYCIT, Madrid. pp. 167-196.
- ZEITOUN, I.H.; HALVER, J.E.; ULLREY, D.E. y TACK, P.I. (1973)
Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings.
J. Fish. Res. Bd. Can., 30: 1867-1873.