

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“DIGESTIBILIDAD DE INGREDIENTES PROTEICOS Y
REQUERIMIENTO DE PROTEÍNA PARA EL PACO (*Piaractus
brachypomus*) EN LA ETAPA DE ALEVINOS”**

Presentada por:

KEYLA BENJA BRIONES ZAMBRANO

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

Lima – Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“DIGESTIBILIDAD DE INGREDIENTES PROTEICOS Y
REQUERIMIENTO DE PROTEÍNA PARA EL PACO (*Piaractus
brachypomus*) EN LA ETAPA DE ALEVINOS”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

Presentada por:

KEYLA BENJA BRIONES ZAMBRANO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg. Sc. Víctor Hidalgo Lozano
PRESIDENTE

Mg. Sc. Víctor Vergara Rubín
PATROCINADOR

Ph. D. Carlos Gómez Bravo
MIEMBRO

Ph. D. Víctor Guevara Carrasco
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mis padres, Marco y Lucinda por su constante amor, apoyo y confianza, por ser la motivación de mejorar cada día.

A mis hermanos Johnathan, Maricarmen y Diego por su apoyo y compañía.

A Sergio por su compañía y soporte durante toda mi vida académica.

AGRADECIMIENTOS

A mi patrocinador Mg Sc. Víctor Vergara, por la confianza, orientación y apoyo brindado para la ejecución de la presente investigación.

A los miembros del jurado, Mg Sc Víctor Hidalgo, Ph D. Víctor Guevara y Ph D. Carlos Gómez por los valiosos aportes brindados en este trabajo de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), por la oportunidad de realizar la maestría y su colaboración en el financiamiento del presente trabajo de investigación.

A mis amigos David, Daniel, Brian, Adriano, Norah y Jorge, por su importante colaboración durante la parte experimental de la investigación.

A todas aquellas personas que de algún modo durante la Maestría me apoyaron.

A mi alma mater la Universidad Nacional Agraria la Molina.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1.	El Paco (<i>Piaractus Brachypomus</i>).....	2
2.1.1.	Aspectos Generales.....	2
2.1.2.	Hábitos alimenticios	3
2.1.3.	Condiciones de agua en cultivo para el Paco (<i>P. brachipomus</i>).....	4
2.2.	Digestibilidad	4
2.2.1.	Coeficiente de Digestibilidad.....	4
2.2.2.	Métodos para determinar la digestibilidad.....	5
2.2.3.	Factores que afectan la digestibilidad.....	10
2.3.	Ingredientes proteicos utilizados en la alimentación de peces	12
2.3.1.	Torta de Soya	12
2.3.2.	Harina de soya integral extruida	16
2.3.3.	Harina de Pescado.....	19
2.3.4.	Evaluación de digestibilidad de ingredientes proteicos en peces	22
2.4.	La proteína en peces	22
2.5.	Requerimiento de proteína en el paco	23
2.6.	Metodología para determinar el requerimiento de proteína.....	24
2.6.1.	El enfoque factorial.....	24
2.6.2.	El enfoque empírico (Dosis - Respuesta).....	24
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1.	Lugar y periodo de duración	27
3.2.	Instalaciones, equipos y materiales	27
3.3.	Evaluación de la calidad de agua.....	29
3.3.1.	Parámetros de calidad de agua durante el experimento de digestibilidad	29

3.3.2. Parámetros de calidad del agua en el experimento de requerimiento.....	30
3.4. Experimento I: Determinación de digestibilidad y energía digestible	31
3.4.1. Animales experimentales	31
3.4.2. Ingredientes evaluados.....	32
3.4.3. Tratamientos	32
3.4.4. Dietas experimentales	32
3.4.5. Manejo experimental	36
3.4.6. Análisis de datos	37
3.5. Experimento II: Determinación del requerimiento de proteína para el paco.....	39
3.5.1. Animales experimentales	39
3.5.2. Tratamientos	39
3.5.3. Dietas experimentales	39
3.5.4. Manejo experimental	40
3.5.5. Parámetros productivos.....	42
3.5.6. Análisis de Datos	43
3.5.7. Determinación de requerimiento	45
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
4.1. Determinación de digestibilidad y energía digestible de ingredientes proteicos para el paco.....	46
4.1.1. Digestibilidad aparente de los ingredientes evaluados	46
4.1.2. Energía Digestible.....	51
4.2. Determinación del requerimiento proteico para el paco	52
4.2.1. Requerimiento mediante análisis de medias Tukey.....	52
4.2.2. Requerimiento mediante regresión línea quebrada.....	54
4.2.3. Requerimiento mediante regresión polinomial cuadrática	56
4.2.4. Comparación de los diferentes análisis.....	58

V.	CONCLUSIONES.....	60
VI.	RECOMENDACIONES	61
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
VIII.	ANEXOS.....	76

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Contenido nutricional de la torta de soya (base fresca).....	14
Cuadro 2: Contenido nutricional de la Harina de soya integral extruida	18
Cuadro 3: Contenido nutricional de la harina de pescado (base fresca).....	20
Cuadro 4: Parámetros de calidad de Agua durante el experimento de digestibilidad	30
Cuadro 5: Parámetros de calidad de Agua durante el experimento de requerimiento	31
Cuadro 6: Fórmulas de las dietas de la prueba de Digestibilidad y energía digestible para el Paco (Base fresca).....	34
Cuadro 7: Fórmula de la premezcla de vitaminas y minerales.....	35
Cuadro 8: Formulas de las dietas para la determinación de requerimiento proteico ysu valor nutritivo (Base fresca).....	41
Cuadro 9: Análisis químico de las dietas y heces de la prueba de digestibilidad (Tal como ofrecido).....	47
Cuadro 10: Contenido nutricional y digestibilidad de la harina de pescado, torta de soya, harina de soya integral extruido (Base seca).....	48
Cuadro 11: Efecto del nivel proteico de la dieta sobre el comportamiento productivo de juveniles de paco.....	53
Cuadro 12: Requerimientos de proteína obtenidos mediante diferentes métodos.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Flujo del proceso de obtención de la torta de soya	15
Figura 2: Flujo del proceso de obtención de la harina de soya integral extruida	17
Figura 3: Flujo del proceso de elaboración de Harina de pescado	21
Figura 4: Requerimiento de proteína en base al análisis de regresión línea quebrada	54
Figura 5: Requerimiento de proteína en base al análisis de regresión polinomial cuadrática	57

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Instalaciones y equipos del LINAPC	76
ANEXO 2: Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos (LINAPC).....	77
ANEXO 3: Parámetros de calidad de agua durante la prueba de digestibilidad	78
ANEXO 4: Parámetros de calidad de agua durante experimento de requerimiento	79
ANEXO 5: Peso y talla inicial de los peces para la prueba de digestibilidad	80
ANEXO 6: Análisis proximal de los ingredientes evaluados.....	81
ANEXO 7: Análisis proximal de las Dietas de la prueba de digestibilidad.....	82
ANEXO 8: Análisis proximal de las Heces	83
ANEXO 9: Determinación de la concentración de Oxido de cromo en las dietas y Heces	85
ANEXO 10: Coeficientes de digestibilidad de los ingredientes evaluados	86
ANEXO 11: Nutrientes digestibles y energía digestible de los ingredientes evaluados	87
ANEXO 12: Parámetros productivos de los peces de la prueba de requerimiento	88
ANEXO 13: Análisis de varianza de los parámetros productivos de la prueba de requerimiento	89

RESUMEN

La piscicultura continental es una alternativa de seguridad alimentaria, siendo la región Amazónica una de las regiones del mundo con las mejores condiciones para desarrollar la cría de peces. El paco (*Piaractus brachypomus*), es una de las especies promisorias de este sector y ha tenido un elevado crecimiento en producción en los últimos años. Con el objetivo de determinar la digestibilidad de nutrientes y la energía digestible de ingredientes proteicos; y establecer el requerimiento proteico de alevines de Paco, dos experimentos fueron realizados en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de peces y crustáceos. Para determinar la digestibilidad se utilizó durante 12 semanas 48 juveniles de Paco de 223 g, distribuidos en cuatro grupos experimentales, cada uno tuvo tres repeticiones. Los coeficientes de digestibilidad obtenidos en juveniles de paco para la materia seca de la harina de pescado, torta de soya y harina de soya integral extruida es de 67.35, 69.88, 67.41 por ciento respectivamente; para la proteína es 82.43, 80.18 y 83.85 por ciento respectivamente; para el extracto etéreo es 89.81, 75.57 y 83.58 por ciento respectivamente. La energía digestible alcanza un valor para la harina de pescado, torta de soya y harina de soya integral extruida de 3720, 3200, 3690 kcal/kg para juveniles de paco. Para establecer el requerimiento proteico se utilizó 150 alevines de Paco de 2.6 g de peso vivo distribuidos en cinco tratamientos, con tres repeticiones cada uno, alimentadas durante 6 semanas con niveles de proteína bruta de 26, 28, 30, 32 y 34% (uno para cada tratamiento); en base al análisis de regresión cuadrático y tomando como variables respuesta la ganancia de peso y la conversión alimenticia, el requerimiento obtenido de proteína en la dieta es de 34.78% y 33.99% respectivamente.

Palabras claves: *Piaractus brachypomus*, paco, requerimiento proteico, digestibilidad.

ABSTRACT

Two trial experiments were carried out in the Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos. First, a reference diet and three diets composed of the feedstuffs (fishmeal, soybean meal dehulled and extruded full-fat soybean meal) were tested for twelve weeks in the Paco *Piaractus Brachypomus* to determine the *in vivo* Apparent Digestibility Coefficients (ADC) for dry matter, crude protein, lipid and energy. Feces were collected by sedimentation and digestibility coefficients were calculated using chromium oxide as an external indicator. Average ADC ranges found for crude protein (80.18-83.85%), dry matter (67.35 - 69.88%), lipid (75.57 – 83.58%) and the digestible energy content (ED) (3200-3720 kcal / kg) were similar to those previously reported ADCs. In the second experiment, five dietary protein levels from 26 to 34% were tested for fingerling paco over a feeding period of six weeks. Weight gain and feed efficiency were significantly influenced by dietary protein level. A linear increase in weight gain and feed efficiency was observed in response to dietary protein level from 26 to 32%, after which it declined with protein levels of 34%. Based on a quadratic equation, the protein requirement for maximizing weight gain and feed efficiency was estimated at 34.78% and 33.99% respectively in *Piaractus brachypomus* fingerlings,

Key words: *Piaractus brachypomus*, paco, protein requirement, digestibility.

I. INTRODUCCIÓN

En las investigaciones de las Naciones Unidas, la población mundial llegará en el 2025 a 8000 millones de personas y según la FAO (2016), la producción acuícola es una buena alternativa para cubrir sus deficiencias alimenticias (Solar, 2002 y Mesa-Granda et al., 2007). Entre 2005 al 2014 la acuicultura peruana incrementó su producción de 25978 TM a 115269 TM, lo cual representa un crecimiento importante frente a otros sectores de producción de alimentos en el país. La región Amazónica, es una de las regiones del mundo con las mejores condiciones para desarrollar la cría de peces, el paco (*Piaractus brachipomus*), es un de las especies promisorias de este sector y ha tenido un crecimiento en producción de 43 TM en el 2005 a 453 TM en el 2014 (Ministerio de la Producción, 2014). El Paco (*Piaractus brachipomus*), es originaria de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, es altamente resistentes al manejo (cultivo en cautiverio), por su docilidad y rusticidad; presentan alta resistencia a las enfermedades (Hernández, 1994) y fácil adaptación a condiciones limnológicas desfavorables por períodos de tiempo no prolongados (Díaz y López, 1995).

La nutrición de peces cultivables es relativamente nueva y primitiva en términos de conocimientos acumulados cuando es comparada a la nutrición de aves y vacunos; existe muy poca información disponible de requerimientos nutricionales y del potencial de uso de los ingredientes en la alimentación del paco; en cuanto a determinación del requerimiento proteico Gutiérrez et al. (1996) lo determinó en peces juveniles de paco mediante un análisis de varianza y la prueba de Tukey; Vásquez-Torres et al. (2011) lo halló mediante un análisis de regresión cuadrática en juveniles de paco; en cuanto al uso de ingredientes en la alimentación de paco se puede mencionar los estudios realizados por Murillo et al. (2003), López (1994), Gutiérrez-Espinoza et al. (2008 y 2012).

Por lo tanto, el objetivo en esta investigación es evaluar la digestibilidad de nutrientes y energía digestible de tres ingredientes proteicos tales como harina de pescado, torta de soya y harina de soya integral extruida para usarlos en su alimentación; y determinar el requerimiento de proteína del paco en la etapa de alevino.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El Paco (*Piaractus Brachypomus*)

2.1.1. Aspectos Generales

De acuerdo con Lauzanne et al. (1985), esta especie pertenece a la Orden de los *Characiformes*, a la familia *Serrasalminidae* y al género *Piaractus*; los nombres comunes para esta especie varían según la región, en Brasil se le conoce como Pirapitinga, Paco en el Perú y Cachama blanca en Colombia (Carolsfeld et al., 2003). Este pez es nativo de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas y afluentes que corresponden a los países de Colombia, Brasil, Venezuela y Perú (Orozco, 1990; Díaz y López, 1995 y Lucas, 2008), y es considerada como la especie de mayor potencial productivo y comercial en la piscicultura extensiva, semi intensiva e intensiva de aguas cálidas continentales de América tropical; esta especie está recibiendo especial atención por el elevado rendimiento que se está alcanzando. En la Amazonía peruana, se están cultivando esta especie desde la década de los cincuenta (Guerra et al., 1992), con experimentos en pequeña escala inicialmente y recientemente con interés creciente a nivel estatal y privado. en este sentido, se ha reportado en el Perú una creciente producción de 453 TM en el 2014 (Ministerio de la Producción, 2014).

El paco empezó a producirse desde 1983, su importancia comercial radica en la excelente calidad y sabor de su carne que le da buena aceptación en el mercado, igualmente, su valor productivo depende de sus hábitos alimenticios, logrando altas tasas de conversión alimenticia (Mesa-Granda y Botero-Aguirre, 2007). El Paco es una especie resistente al manejo en cautiverio, presenta alta docilidad y rusticidad; es resistente a enfermedades y de fácil adaptación a condiciones limnológicas desfavorables por períodos no prolongados.

Morfométricamente es un poco más pequeño que la Gamitana (*C. macropomum*), pues puede medir hasta 85cm y puede pesar hasta 20kg, presenta una coloración más clara, blanco plateado, a veces azuladas en el dorso y flancos que la Gamitana. El Paco tiene el cuerpo profundo y comprimido lateralmente, con lados plateados (oscureciéndose cerca al dorso), su abdomen es blanquecino, con ligeras manchas anaranjadas en el abdomen, la barbilla, las

aletas pectorales, y ocasionalmente los principales rayos de la aleta anal (Clavijo, 2011). Las aletas restantes son de color uniforme oscuro. Una pequeña aleta adiposa está presente aproximadamente a medio camino entre las aletas dorsal y caudal. La aleta dorsal contiene 15-18 rayos, las aletas pectorales 16-19, la aleta anal 24-28, y las aletas pélvicas 8. Los primeros rayos de las aletas dorsal y anal son más largos que los elementos restantes (Schleser, 1997).

2.1.2. Hábitos alimenticios

El conocimiento de la dieta y de los hábitos alimenticios en la naturaleza es esencial para el entendimiento de varios aspectos de la biología de los peces y para el desarrollo de dietas artificiales y métodos de alimentación. Mediante técnicas de captura de animales silvestres y la extracción del contenido estomacal se ha definido que en ambientes naturales la dieta del paco está constituida principalmente por frutas y semillas de diferentes especies de árboles tropicales, aparte de insectos y peces más pequeños, por lo que son consideradas especies omnívoras que le permite aceptar diferentes tipos de alimentos naturales, logrando altas tasas de conversión alimenticia (Gutiérrez et al., 1996; Mesa-Granda y Botero-Aguirre, 2007 y Landines et al., 2011). Presentan fuertes dientes, los cuales se compone de 2 series de incisivos molariformes situados en el premaxilar y 1 fila de dientes del dentario (Schleser, 1997), permitiéndoles alimentarse de hojas grandes, semillas o frutas que caen de los árboles.

En sus primeros estadios de crecimiento pueden filtrar los microorganismos y algas que crecen en el agua, en estado juvenil es omnívoro pues se alimenta principalmente de frutas, semillas y zooplancton (Aliaga, 2004); durante las épocas de las inundaciones y en la época de aguas bajas, se alimentan de caracoles, cangrejos, insectos, cadáveres de animales diversos y de plancton (Arias y Vásquez, 1988), cuando el nivel de agua decrece, se observa un adelgazamiento que se prolonga hasta la mitad de la crecida siguiente, dándose una etapa de largo ayuno, siendo total para los adultos y parcial para los juveniles (Loubens y Panfili, 1997).

Son peces de fácil adaptación que pueden aprovechar diversos recursos alimenticios e incluso soportar ausencia de alimento por periodos prolongados, los cuales pueden variar según la estación climática o asociarse a la migración reproductiva (Goulding, 1981). Estas especies en condiciones de cultivo reciben y convierten muy bien los alimentos concentrados secos que se les suministran (Landines, 2011).

2.1.3. Condiciones de agua en cultivo para el Paco (*P. brachipomus*)

Se encuentran naturalmente en aguas con temperaturas de 23°C y 30°C, presentan resistencia a bajas concentraciones de oxígeno, simplicidad de manejo, lo cual permite que los piscicultores lo cultiven, ya sea para subsistencia, para comercio local o para mercadeo en volumen. (Arias y Vásquez, 1988).

De acuerdo con OLDEPESCA (2010), tanto para cachama negra *C. macropomum* como para cachama blanca *P. brachypomus*, las condiciones fisicoquímicas del agua de cultivo son:

- Temperatura: El rango óptimo está entre 25°C – 32°C.
- Oxígeno disuelto: Los niveles óptimos están entre 4 – 12 ppm.
- pH: Para que sea adecuado, debe estar entre 6.5 – 8.5.
- Dureza: El rango óptimo se mueve entre 50 – 350 ppm.
- Alcalinidad: Los niveles óptimos están entre 50 – 300 ppm.

2.2. Digestibilidad

La digestibilidad es la medida del aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con que es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición. Comprende dos procesos, la digestión que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos, y la absorción de pequeñas moléculas (aminoácidos, ácidos grasos) en el intestino.

La digestibilidad puede estar afectada por las relaciones entre los micronutrientes y macronutrientes tanto como de la presencia de componentes inhibitorios (Manríquez, 1994). Por tanto, la digestibilidad de un ingrediente en el animal depende no solo de las condiciones medioambientales, estructura del tracto digestivo y su fisiología sino también del ingrediente y sus características nutricionales (Lee y Lawrence, 1997).

2.2.1. Coeficiente de Digestibilidad

El coeficiente de digestibilidad permite cuantificar la digestibilidad. Puede definirse de dos maneras, según tengamos en cuenta o no en el balance la presencia eventual de una posible

fracción de origen endógeno en el desecho fecal (esencialmente en el caso de lípidos, aminoácidos y minerales). De este modo, se define para un nutriente dado dos tipos de coeficientes.

a. Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA)

Depende del estado fisiológico del pez y del nivel de ingesta, y permite evaluar la aptitud del animal en retener o utilizar una ración alimenticia (Guillaume et al., 2004).

$$CDA = \frac{\text{ingesta} - \text{fecal}}{\text{ingesta}}$$

b. Coeficiente de digestibilidad real (CDR)

Depende sobre todo de la naturaleza de la dieta y de las capacidades digestivas de la especie, permitiendo evaluar la aptitud del alimento para proveer al animal con el nutriente utilizable. De forma rutinaria se calcula el CDA ya que la determinación de la fracción endógena (reducida en el pez) es delicada (Guillaume et al., 2004).

$$CDR = \frac{\text{ingesta} - (\text{fecal} - \text{fecal endogeno})}{\text{ingesta}}$$

2.2.2. Métodos para determinar la digestibilidad

a) Método de medición

- **Método directo:**

Implica la medición de la totalidad del alimento ingerido y de las heces emitidas, correspondientes a una o varias comidas. Este método es aplicable siempre que se permita recoger cuantitativamente las materias fecales derivadas de la ración dada a los peces. (Guillaume et al., 2004).

Choubert (1999) menciona que la ventaja de este método es que puede ser usado para evaluar dietas vivas y alimentos, cuantificando los nutrientes aportados por la dieta y excretados en las heces, y por diferencia obtener el porcentaje de nutrientes asimilado por el organismo. La mayor desventaja de este método es la necesidad de recolectar la totalidad de la materia fecal excretado por los peces, lo que en la realidad es muy difícil de lograr, además que se presenta el inconveniente que no todos los elementos excretados corresponden a los

incorporados por la ración diaria de alimento (Choubert et al., 1979). Se puede utilizar para ello una cámara metabólica en la que el principio utilizado es el mismo que para los animales terrestres. No obstante, también es adecuado cualquier otro método para recoger las heces siempre que permita una cuantificación total de las materias fecales de los peces (Guillaume et al., 2004).

En el método de la cámara metabólica se utiliza un acuario especial, que presenta forma cilíndrica y puede contener a un pez, de aproximadamente 500 g. está separada en dos partes por una membrana flexible que soporta el animal entre las aletas pectorales y pélvicas. Este dispositivo permite coleccionar de forma simultánea y por separado, las excreciones branquiales, urinarias y fecales; la parte anterior recoge el amoníaco excretado a través de las branquias; la parte posterior las heces y la orina se recoge por canulación de la uretra. Los peces son alimentados con una sonda intragástrica después de anestésarlos (Choubert, 1999).

La recolección de los productos de excreción, son determinados cualitativamente y cuantitativamente. Por tanto, es posible saber la absorción aparentemente de los nutrientes (por diferencia entre lo ingerido y excretado) y luego calcular el coeficiente de digestibilidad. Sin embargo, el método presenta inconvenientes; ya que sólo se puede experimentar con peces grandes y con uno a la vez, lo que significa realizar micro-dosajes o muestras de agrupación, durante varios días, debido a que los productos que se excretan diariamente son mínimos. Además, la introducción del dispositivo (cánula), resulta complicado en algunos peces, los cuales deben soportar el confinamiento, durante mucho tiempo. Este estrés en el animal puede ser la causa de resultados erróneos debido en particular a los trastornos fisiológicos (Choubert, 1999).

- **Método indirecto:**

No implica la medición de la totalidad de la ingestión alimenticia ni de la emisión fecal. Su originalidad reside en la utilización de un marcador inerte no digestible y no absorbible incluido en los alimentarios o incorporado a la dieta. Por sus particulares propiedades, esta sustancia después de haber transitado en el bolo alimenticio se recupera totalmente en las heces. El aumento de la concentración del marcador, en comparación con la de los nutrientes, permite cuantificar la desaparición de estos nutrientes y esta desaparición se equipará a la absorción (Guillaume et al., 2004).

La principal ventaja del método con indicador es la no necesidad de una recolección total, sino que basta una muestra tomada al azar que contenga el indicador. Una de las desventajas este método es la lixiviación que sufren las heces al estar en contacto con agua. Al respecto es necesario ser muy uniforme en la realización de todos los procedimientos de manera que todas las muestras sufran el mismo grado de lixiviación y los resultados continúan siendo válidos, porque son comparativos (Gutiérrez et al., 2009).

La utilización de un componente interno indigestible (cenizas insolubles en ácido) (Vandenberg y De la Noüe, 2001; Goddard y Mclean, 2001) o un marcador externo indigestible (Cho y Slinger 1979; Cho et al 1982; Austreng et al, 2000) elimina la necesidad de cuantificar la totalidad de las heces, pero requiere una muestra representativa (Maynard y Loosli, 1979). Existen muchos marcadores inertes que pueden ser utilizados, pero los más relevantes son: óxido de cromo (Cr_2O_3), óxido de Itrio (Y_2O_3), óxido de lantano (La_2O_3), dióxido de titanio (TiO_2), dióxido de silicio (SiO_2), óxido de iterbio (Yb_2O_3), polietileno, Celite, Sipernat y el microtraza Fe-Ni (Calderon, 2010).

Una variedad de criterios ha sido reportada para la utilización de un marcador específico en los alimentos, incluyendo la tasa de marcador recuperado en las heces y alimento, uniformidad al pasar por el sistema digestivo, exactitud del cálculo de digestibilidad, solubilidad del marcador, complejidad de los análisis, o interacción del marcador con algún ingrediente del alimento o el sistema digestivo del pez (Austreng et al., 2000; Vandenberg y de la Noüe, 2001; Shiau y Shy, 1998). Dentro de las particularidades que debe cumplir un marcador se destacan: fácil mezcla con alimento, no tóxico, dosificable, debe ser totalmente indigerible, con una tasa de evacuación igual a la del contenido estomacal y debe analizarse en laboratorio fácilmente (Hardy, 1997; Austreng et al., 2000). Furukawa y Tsukahara (1966) mejoraron la técnica de determinación del marcador de óxido de cromo, por lo que muchos investigadores desde entonces utilizan su metodología cuando aplican dicho marcador en sus estudios de digestibilidad.

b. Métodos para la recolección de heces

Para la determinación de coeficientes de digestibilidad aparente de una dieta o una materia prima, es común utilizar la recolección de las heces del animal, pues es un procedimiento económico y que no representa mayor esfuerzo. En animales terrestres es fácil realizar este

procedimiento, pero en peces se dificulta por la existencia del medio acuático. (Austreng, 1978), fueron pioneros al adaptar un método directo para determinar digestibilidad en trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), que consistía en filtrar las heces del agua. Este método necesitaba de muchos análisis y cálculos, además de generar muchos errores al contaminarse las muestras de heces con compuestos nitrogenados excretados a través de las branquias y la orina. A partir de estos autores, se han venido desarrollando múltiples técnicas para la recolección de heces de los peces, buscando determinar la digestibilidad aparente de la manera más precisa posible.

Los métodos más usados son los siguientes:

- **Masaje abdominal o stripping**

Consiste en practicarle al pez un masaje firme en su abdomen en sentido craneal – caudal, para extraer muestras de heces (Fernández et al., 1996; Percival et al., 2001; Adeparusi & Komolafe, 2006; Gaylord et al., 2009 y Rawles, 2009). Austreng (1978) evaluó la eficiencia de 2 métodos de stripping para la extracción de heces vs. heces obtenidas directamente por disección de los segmentos anterior y posterior del intestino.

El método I de *stripping* consistía en practicarle el masaje al animal en sentido craneal – caudal desde las aletas pectorales hasta el ano, tal y como se hace para la extracción de ovas.

El método II de *stripping* consistía en practicarle el masaje desde las aletas ventrales hasta el ano. Con este último se encontraron altos coeficientes de digestibilidad, al igual que con el método de disección.

- **Disección intestinal**

Los peces son alimentados por cinco días con una dieta conteniendo óxido de cromo (Cr₂O₃), posteriormente se escogen aleatoriamente a los peces que serán anestesiados con benzocaína (0.05 g/L), los cuales serán sacrificados y abiertos lateralmente para retirar el contenido fecal del recto. La porción distal del intestino (después de la segunda válvula intestinal), es retirada del pez y colocada en una placa Petri. Utilizando una hoja de bisturí, el intestino es abierto longitudinalmente y con una espátula, el contenido fecal es retirado y colocado en una placa Petri para ser llevada a estufa y realizar los análisis respectivos (Abimorad y Carneiro, 2004).

- **Sifoneo**

Los peces son alimentados durante el día, cuidadosamente a saciedad, con el fin de asegurar que todo el alimento ofrecido sea ingerido por los peces. Una hora después de la última comida cada acuario es limpiado y se vacía un tercio del agua de cada uno, a fin de eliminar del sistema los residuos de alimento y heces, y así asegurar que el proceso de limpieza sea completo. Al siguiente día, se extraen del fondo del tanque o acuario las heces que se encuentren allí reposadas, por medio de una manguera (Adeparusi y Komolafe, 2006; Cruz–Suárez et al., 2009).

- **Método de Guelph**

Comprende dos tipos de colección

- **Guelph convencional**

Consiste en el uso de tanques cilíndricos, con un fondo cónico y capacidad de 80 litros. El abastecimiento de agua fue por la parte superior y el flujo de agua por la parte inferior, cuenta con una columna de agua donde se depositan las heces para su recolección. Los peces son alimentados con dietas conteniendo óxido de cromo, por cinco días, en tanques externos, posteriormente son trasladados a los acuarios Guelph convencionales para coleccionar las heces cada media hora (Abimorad y Carneiro, 2004).

- **El método Guelph modificado**

Los acuarios de digestibilidad presentan medidas de 50x40cm una inclinación de 10 a 15° en su base, permitiendo el deslizamiento de las heces a la parte más baja del acuario, además cuentan con un tubo colector en la parte frontal, en la cual, por el flujo del agua y gravedad, las heces se depositan en la parte inferior del mismo, para ser colectadas.

Abimorad y Carneiro (2004), evaluaron en un estudio cuatro métodos de recolección de heces, que fueron: disección, stripping, Guelph convencional y Guelph modificado, para determinar digestibilidad de la proteína, para una dieta referencial, la cual contenía 0.5% de óxido de cromo (Cr₂O₃). Las evaluaciones se realizaron en paco (*Piaractus mesopotamicus*), con un peso promedio de 250 g. Los resultados fueron de 81.44±3.523; 82.83±2.55; 86.66±0.76 y 84.52±0.38, para los métodos Guelph convencional, Guelph modificado, stripping y disección, respectivamente, no mostrando diferencias estadísticas.

También evaluaron el efecto de los tiempos de intervalo de colección de heces (0; 30; 60; 120; 240 y 480 minutos), no encontrando diferencias significativas para los tiempos. Sin embargo, recomiendan la colección cada 30 minutos para evitar la lixiviación de las heces.

2.2.3. Factores que afectan la digestibilidad.

La digestión depende de tres factores principales:

- a) El alimento ingerido y el grado al cual es susceptible a los efectos de las enzimas digestivas.
- b) La actividad de las enzimas digestivas
- c) El tiempo que está expuesto a dichas enzimas.

Cada uno de estos factores principales es influido por una multitud de factores secundarios algunos de las cuales se relacionan con el pez en sí, como especie, edad, tamaño, y estado fisiológico; otros están asociados a las condiciones medioambientales, como temperatura del agua, y otros más se relacionan con el alimento, como composición, tamaño de partícula y cantidad ingerida. Los más importantes de estos factores y efectos sobre la digestibilidad merecen un análisis más detallado (Hepher, 1988).

a. Especie:

El coeficiente de digestibilidad puede variar entre especies debido tanto a las diferencias en el aparato digestivo y sus enzimas. Según Hepher (1988) las variaciones entre especies de peces en la digestibilidad de proteínas y de lípidos son pequeñas, pero son mucho más pronunciadas las variaciones en la digestibilidad de carbohidratos, en especial el almidón, ya que los peces carnívoros digieren esta sustancia en mucho menor medida que los peces omnívoros y herbívoros.

b. Edad del pez:

La actividad enzimática puede variar con la edad del pez, las actividad proteolítica y amilolítica de la trucha son más bajas en las primeras fases del desarrollo que en las fases posteriores. Esto puede afectar los coeficientes de digestibilidad (Choubert, 1999).

c. Condiciones fisiológicas

Los peces cuyo equilibrio fisiológico se encuentren alterados debido a manipulación excesiva o enfermedad, pueden presentar trastornos digestivos. La inanición por lo general reduce la capacidad hidrolítica del intestino, al disminuir la actividad de las enzimas digestivas. Paralelamente con las variaciones estacionales, la actividad de la enzima digestiva puede presentar variaciones en la capacidad digestiva de los peces (Hepher, 1988).

d. Condiciones del agua

Un aumento en la temperatura puede incrementar tanto la secreción y la actividad de las enzimas e influye en la rapidez de absorción de los nutrientes digeridos, a través de la pared intestinal. Sin embargo, mientras mayor sea la temperatura más rápido será el transporte del alimento y más corto el tiempo de exposición a las enzimas digestivas.

Cho y Singler (1979) demostraron que el coeficiente de digestibilidad de un alimento prueba, para truchas arco iris no variaba a un intervalo de temperatura de 9°C a 15 °C pero aumentaba ligeramente cuando la temperatura se elevaba a 18 °C. Hepher (1988) menciona que la digestibilidad de la materia seca, energía y la proteína para la trucha arco iris disminuía linealmente al aumentar la salinidad del agua. Podría ser un efecto directo del contenido de sal o un efecto indirecto de la alteración del equilibrio fisiológico del pez.

e. Composición del alimento

Hepher (1988), menciona que los alimentos de origen vegetal son digeridos en menor grado que los de origen animal, ya que las células vegetales poseen una pared celular que les da gran resistencia y dificulta la penetración de las enzimas digestivas, además la digestibilidad también puede ser afectada por la forma del alimento y como se le procese. Este mismo autor refiere en su investigación que las algas secadas al sol son menos digeribles que las desecadas en un tambor de vapor. Ya que al parecer en el tambor de vapor se rompe la pared celular del alga y expone el contenido de las células a la acción de las enzimas, mientras que la deshidratación lenta al sol puede causar el engrosamiento y endurecimiento de dichas paredes. Lo cual protege el contenido celular contra las enzimas.

Hepher (1988) menciona que el molido y la acción y la cocción como el proceso de extrusión mejoran la digestibilidad de la proteína y el almidón (pero no de las grasas) en dietas para bagre y que la digestibilidad de los lípidos depende de la composición y el nivel de saturación de estos, disminuye al aumentar el número de átomos de carbono en la cadena de ácido graso y se incrementa con el número de dobles enlaces.

2.3. Ingredientes proteicos utilizados en la alimentación de peces

2.3.1. Torta de Soya

a. Aspectos generales

La torta de soya es uno de los productos de la soya (*Glycine max*) y es una de las materias primas proteicas de mayor uso en la nutrición de animales. Tiene un nivel de proteína de 44-48 por ciento, por lo que se sitúa entre los insumos de origen vegetal, que se consideran fuentes de alto valor proteico. Este subproducto puede utilizarse como la fuente primaria de proteínas para los peces omnívoros en todo el mundo, pues es un producto que es fácilmente disponible y bien utilizado por los peces. (Barboza, 2016).

En el cuadro 1 se aprecia la composición nutricional de la torta de soya, en donde se observa que la proteína de la soya contiene uno de los mejores perfiles de aminoácidos de todos los ingredientes de origen vegetal, cubriendo los requerimientos de aminoácidos esenciales para peces (NRC, 2011).

La metionina + cistina son los aminoácidos esenciales limitantes en la proteína de soya para casi todos los animales. Sin embargo, en el caso del bagre el requerimiento de metionina+cistina es relativamente bajo, por lo que la proteína de soya cubre sus requerimientos. La proteína de soya es limitante en metionina+cistina y también en treonina para algunos peces, pero sigue siendo superior en contenido de aminoácidos a los de otras fuentes de origen vegetal comúnmente utilizadas (Lovell, 1991 y Smitherman, 1993).

A pesar de la extracción de los aceites, conserva un buen porcentaje de ácidos grasos esenciales, como ω -3 (0.12 por ciento) y ω -6(0.85 por ciento), mucho más importantes para las dietas acuícolas que en otras especies. En cuanto a los aportes minerales de la torta de soya, destacan dos, el calcio y el fósforo con 0.3 y 0.63 por ciento respectivamente, cifras superiores a las de los cereales (NRC, 2011).

b. Proceso de obtención de la torta de soya

Existen varios procesos para tratar los frijoles de soya. El más común consiste en remover la vaina, los frijoles se muelen a hojuelas que son desgrasadas con un solvente, después es tostado para eliminar los factores antitripsicos. El producto obtenido se denomina torta de soya, un producto con un alto contenido de carbohidratos, bajo en lípidos y que contiene alrededor de 48 por ciento de proteína cruda. Este producto puede ser molido (Foster et al., 2002).

En la figura 1, muestra el flujo de proceso para la obtención de la torta de soya. Se inicia con la recepción de las semillas, estas se limpian para eliminar cualquier material extraño. Luego son almacenados manteniendo a un nivel bajo el contenido de humedad (secado) para evitar el deterioro microbiano y la combustión espontánea. Después pasa a la molienda, y se proceden a una decortización (eliminación de la cáscara) parcial o total por medio de una combinación de clasificación con aire y tamizado o en algunos casos por flotación (Newkirk, 2010).

En la molienda, la extracción del aceite se realiza con mayor eficiencia cuando la semilla se somete a una trituración previa o a una laminación. (Campos, 1991). El calentamiento, favorece el proceso posterior de extracción. Las gotas de aceite repartidas en la masa de la semilla se unen entre ellas para originar gotas más grandes, que salen más fácilmente de la masa de la semilla, por efecto de la elevación de la temperatura. Es importante mencionar que el calentamiento de las semillas se debe realizar con equipos adecuados para no producir alteraciones fisicoquímicas u organolépticas en el aceite (Newkirk, 2010).

Existen dos procesos para la separación del aceite y la parte solida de la soya. El primer proceso es por el método de prensado mecánico. Este método se basa en la aplicación de presión sobre una masa de productos oleaginosos combinados en bolsas, telas, mallas u otros. El segundo proceso es por el método de extracción por solvente, el cual se realiza con hexano, que elimina los constituyentes no oleosos, como la proteína y la fibra. Prácticamente es el único método para conseguir una extracción casi completa del aceite (Chirinos et al., 2009). La torta obtenida después del proceso de extracción del aceite de soya contiene alta cantidad de lípidos y proteínas, surge como alternativa para el uso en la actividad pecuaria.

Cuadro 1: Contenido nutricional de la torta de soya (base fresca)

Componentes	
Humedad, %	12.00
Proteína bruta, %	47.80
Grasa cruda, %	1.00
Cenizas, %	6.00
Fibra cruda, %	3.00
ELN, %	30.20
Aminoácidos	
Metionina, %	0.70
Lisina, %	3.02
Arginina, %	3.60
Histidina, %	1.30
Isoleucina, %	2.60
Leucina, %	3.80
Fenilalanina, %	2.70
Treonina, %	2.00
Triptófano, %	0.70
Valina, %	2.70
Macrominerales	
Calcio, %	0.31
Fosforo, %	0.67
Sodio, %	0.04
Cloro, %	0.02
Magnesio, %	0.28
Potasio, %	2.05
Microminerales y vitaminas	
Cobre, %	15.30
Hierro, ppm	171.00
Manganeso, ppm ³	41.00
Zinc, ppm	48.50
Vit. E, mg/kg	3.30
Biotina, ug/kg	320.00
Colina, mg/kg	2850.00

FUENTE: Batal y Dale (2011)

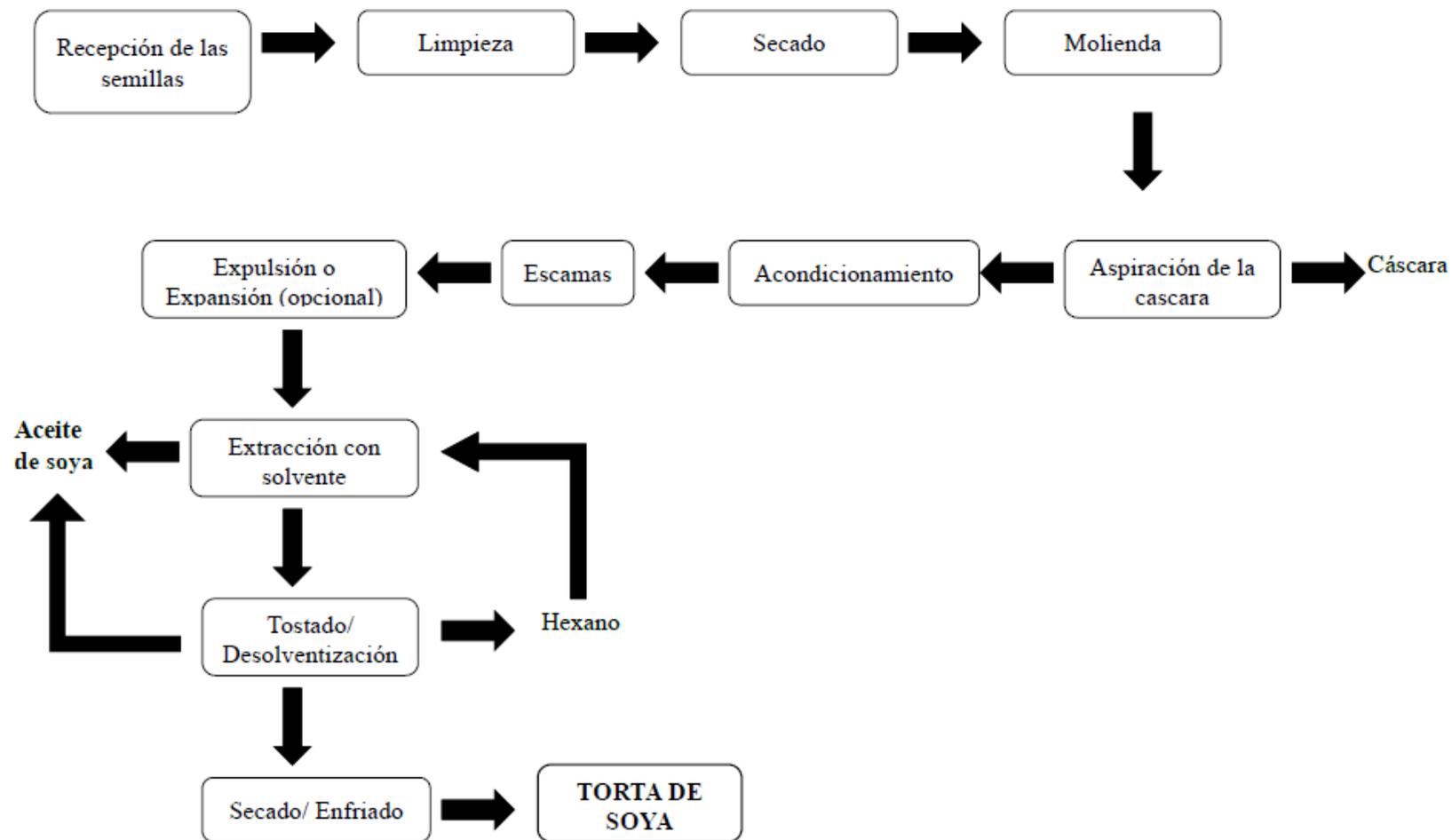


Figura 1: Flujo del proceso de obtención de la torta de soya

FUENTE: Newkirk (2010)

2.3.2. Harina de soya integral extruida

a. Aspectos generales

La soya integral no solo es una excelente fuente de proteína con un magnífico patrón de aminoácidos, sino que además por no habersele extraído la grasa contiene niveles altos de energía, esenciales en la alimentación animal. El grano de soya aporta un excelente nivel de energía útil, proteína y aminoácidos esenciales, especialmente Lisina siempre que se le brinde un proceso térmico adecuado. Para este proceso térmico en la soya se utiliza métodos y equipos (tostado en seco, tostado infrarrojo, extrusión en seco y húmeda) los cuales garantizan una reducción de los factores anti nutricionales que contiene el grano crudo y así obtener un producto con alta calidad y disponibilidad de nutrientes (Garzón, 2006).

b. Procesamiento de la harina de soya integral extruida

Se han desarrollado diferentes tecnologías para el procesamiento de la soya, pero en esencia estas se basan en la aplicación de calor por cierto intervalo de tiempo y en algunas ocasiones adicionando humedad al sistema (Monari, 1999). De acuerdo con Mateos et al. (sf) en general los tratamientos se dividen en procesos cortos (130 – 170°C durante 10 – 180 seg.) y procesos largos (máximo 105°C entre 15 – 30 minutos). Los sistemas más conocidos para tratar el grano de soya son la cocción, el tostado y la extrusión, de estos la cocción pertenece a procesos largos mientras que la extrusión y el tostado se considera un ejemplo de proceso corto.

El proceso de extrusión aplicado al tratamiento de cereales, oleaginosas y piensos consiste en hacer pasar a través de los agujeros de una matriz, la harina de estos productos a presión por medio de un tornillo sinfín que gira a cierta velocidad (Valls, 1993). Esto pretende la destrucción, mediante calor, de factores antitripsicos en condiciones tales que permitan la máxima eliminación sin comprometer la calidad del producto y de los aminoácidos, principalmente la lisina, además señala el aumento en la disponibilidad energética del producto final como consecuencia de la rotura de los liposomas de la liberación de la grasa intracelular (Rueda, 2016). La base del proceso es la aplicación de altas temperaturas, entre 140 y 170°C, durante periodos reducidos de tiempo, menores de 90 segundos (Mateos et al., sf); este principio de combinar altas temperaturas con cortos periodos de tiempo de procesado ha hecho de la extrusión un método efectivo de tratamiento de ingredientes

individuales y dietas completas (Rokey, 1995). La extrusión puede llevarse a cabo en seco o húmeda; según Valls (1993) la extrusión en seco es posible realizarla en productos con alta concentración de aceite, pues este lubrica el paso por la matriz, pero al alcanzar altas temperaturas afecta negativamente la disponibilidad de lisina en el producto final; para la extrusión húmeda se necesita moler muy bien el producto, controlar temperatura, presión y humedad en cada una de las secciones del proceso y tener la apertura de la matriz idónea para obtener un producto de la mejor calidad al menor costo. El proceso de extrusión, en términos generales, puede llevarse a cabo de la siguiente manera:

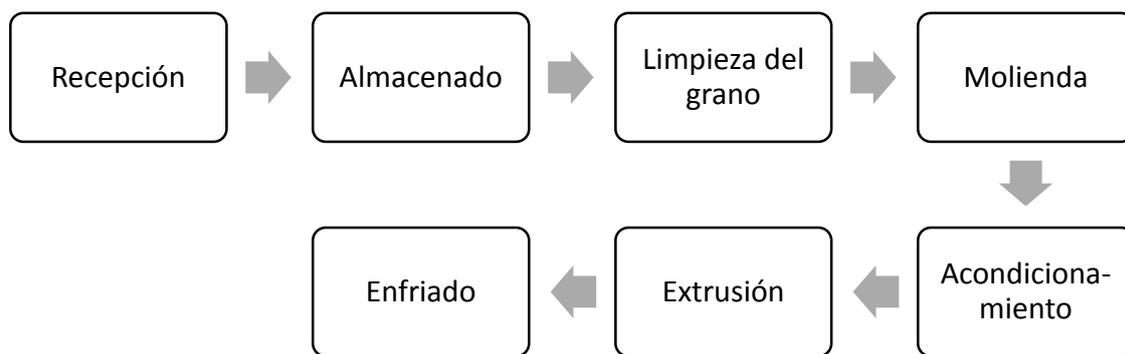


Figura 2: Flujo del proceso de obtención de la harina de soja integral extruida

FUENTE: Rueda (2016)

La extrusión tiene acción directa sobre las proteínas y grasas; en las cadenas proteicas se produce una expansión generando que éstas se desenrollen, aumentando así la superficie de contacto para hacerlas más susceptibles al ataque enzimático y por ende más digestibles; por otro lado, las grasas contenidas en el grano de soja sufren un proceso de emulsión debido a la fuerte presión a que son sometidas y son recubiertas por almidones y proteínas, quedando así encapsuladas; ésta al ser emulsionada es más atacable por los jugos digestivos de los animales, aumentando por tanto la energía del producto (Valls, 1993). Este mismo autor señaló también que el proceso de extrusión produce el desenredamiento de las cadenas proteicas vegetales. Las moléculas se alinean a largo de la matriz y en ausencia de cantidades importantes de almidón, la cocción por extrusión reduce la solubilidad de la proteína cuando la temperatura aumenta. Este autor también manifestó que muchas de las proteínas sometidas a este proceso pueden ser desnaturalizadas y rotas y por lo tanto pierden sus propiedades funcionales.

**Cuadro 2: Contenido nutricional de la Harina de soya integral extruida
(base fresca)**

Componentes	
Humedad, %	10.00
Proteína bruta, %	38.00
Grasa cruda, %	18.00
Cenizas, %	4.60
Fibra cruda, %	5.00
ELN, %	24.40
Aminoácidos	
Arginina, %	2.80
Isoleucina, %	2.18
Lisina, %	2.40
Metionina, %	0.54
Treonina, %	1.69
Triptófano, %	0.52
Valina, %	2.02
Macrominerales	
Calcio, %	0.31
Fosforo, %	0.67
Sodio, %	0.04
Cloro, %	0.03
Magnesio, %	0.21
Potasio, %	1.70
Microminerales y vitaminas	
Cobre, ppm	15.00
Hierro, ppm	75.00
Manganeso, ppm ³	30.00
Zinc, ppm	35.00
Vit. E, mg/kg	31.00
Biotina, ug/kg	286.00
Colina, mg/kg	2420.00

FUENTE: Batal y Dale (2011)

2.3.3. Harina de Pescado

a. Aspectos generales

La harina de pescado es la mejor fuente de calorías concentrada para la alimentación de animales con un 70% a 80% del producto en forma de proteína y grasa digerible, su contenido de calorías es notablemente mayor que muchas otras proteínas animales o vegetales, ya que proporciona una fuente concentrada de proteína de alta calidad y un aceite rico en ácidos grasos omega-3 (DHA y EPA) indispensables para el rápido crecimiento de los animales. El componente nutritivo más valioso de la harina de pescado es la proteína. Tiene una proporción ideal de aminoácidos esenciales altamente digestibles, que varía relativamente poco con el origen de la harina. Además, la proteína tiene una escasa antigenicidad, por lo que resulta muy adecuada en piensos de animales jóvenes. La harina de pescado se considera una buena fuente de proteína, lisina y metionina (FEDNA, 2015). Así mismo, la harina de pescado tiene un contenido relativamente alto de minerales como el fósforo, en forma disponible para el animal. Las vitaminas también están presentes en niveles relativamente altos, como el complejo de vitamina B incluyendo la colina, la vitamina B12, así como A y D (FAO, 2001).

b. Procesamiento de la Harina de Pescado

La harina de pescado es el producto que se obtiene por reducción del contenido de humedad y grasa de pescado, sin agregar sustancias extrañas, salvo aquellas que tienden a mantener la calidad original del producto (Farro, 1996). El proceso normal de fabricación se inicia con el picado o molido del pescado, seguido de su cocción a 100°C durante unos 20 minutos. Posteriormente el producto se prensa y centrifuga para extraer parte del aceite. En el proceso se obtiene una fracción soluble que puede comercializarse independientemente (solubles de pescado) o reincorporarse a la harina. El último paso es la desecación de la harina hasta un máximo de un 10% de humedad (FEDNA, 2015). En las primeras etapas del proceso se añade un antioxidante para evitar el enranciamiento de la grasa y la posible combustión de la harina. Se puede observar el flujo del proceso productivo en la Figura 3.

Cuadro 3: Contenido nutricional de la harina de pescado (base fresca)

Componentes	
Humedad, %	6.76
Proteína bruta, %	67.77
Grasa cruda, %	8.27
Cenizas, %	14.15
ELN, %	3.05
Aminoácidos	
Lisina, g/16g N	7.81
Metionina, g/16g N	3.00
Cistina, g/16g N	4.00
Triptófano, g/16g N	1.10
Histidina, g/16g N	2.45
Treonina, g/16g N	4.34
Isoleucina, g/16g N	4.70
Valina, g/16g N	5.33
Leucina, g/16g N	7.66
Macrominerales	
Calcio, %	3.95
Fosforo, %	2.60
Sodio, %	0.87
Magnesio, %	0.25
Potasio, %	0.65
Microminerales y vitaminas	
Cobre, ppm	10.60
Hierro, ppm	246.00
Manganeso, ppm	9.70
Zinc, ppm	111.00
Biotina, ppm	0.26
Colina, ppm	4400.00

FUENTE: Arroyo (2011)



Figura 3: Flujo del proceso de elaboración de Harina de pescado

FUENTE: Costa (2015)

2.3.4. Evaluación de digestibilidad de ingredientes proteicos en peces

El valor nutricional de un alimento se basa en su composición química y en la capacidad del organismo que lo consume para digerir y absorber los nutrientes y la energía en él contenida (NRC, 1993). Vásquez-Torres et al. (2013) determinó los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca (MS), proteína y energía de alimentos de origen animal y vegetal, utilizados en raciones para Paco (*Piaractus brachypomus*) y obtuvo que los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de proteína variaron de 92,1 a 84,7% entre los ingredientes proteicos de origen vegetal, de 85,0 a 68,5% en los proteicos de origen animal, y de 83,7 a 57,6% entre los de origen vegetal con baja proteína. Los CDA de energía de torta de soya, gluten de maíz, harina de yuca integral y de todos los ingredientes de origen animal arrojaron valores superiores a 76%.

Gutiérrez-Espinosa et al. (2012). encontró que el CDA de la materia seca y proteína para HP fueron 62.6% y 77.2% y para HVP fueron 58.6% y 75.5%, indicando que la harina de vísceras de pollo es una materia prima que puede sustituir la harina de pescado en dietas para cachama blanca. Fernández et al. (2004), determinó los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA), de harina de Soya (SBM), Harina de pescado (FM), Maíz (CN) y Salvado de Trigo (WB), siendo para materia seca 83.72, 90.14, 89.13 y 82.95% respectivamente; para proteína 75.88, 90.49, 85.06 y 61.62% respectivamente.

2.4. La proteína en peces

La proteína es uno de los más importantes nutrientes que afectan el rendimiento piscícola, pero a su vez es uno de los componentes más costosos en la dieta. Al mismo tiempo, el nivel de energía en la dieta también es crítico debido a que altos niveles de energía en la dieta pueden reducir el consumo de alimento y por lo tanto la ingesta de nutrientes necesarios para obtener un excelente rendimiento.

Por otro lado, bajos niveles de energía en la dieta pueden causar que la proteína deba ser usada como fuente de energía para satisfacer los requerimientos energéticos en el metabolismo basal de los peces, en lugar de ser usada para el crecimiento. Por lo tanto, la proteína dietaria y los niveles de energía deben estar en balance para optimizar la producción piscícola (Gutiérrez et al., 2010)

Si bien es cierto, alternativamente, las proteínas son utilizadas por los peces como el más importante recurso de energía (Montoya, 2002), debido a que los peces no pueden degradar eficientemente los carbohidratos para usarlos como energía, con respecto a ello se debe recalcar que, los peces herbívoros u omnívora pueden utilizar los carbohidratos más eficientemente que los peces carnívoros, La tilapia del Nilo, omnívora de aguas cálidas, puede digerir el 70% de la energía bruta como almidón crudo, mientras que la trucha arcoíris, carnívoro de agua fría posiblemente digiere menos del 50% (Cho y Slinger, 1979; citado por Montoya, 2002).

2.5. Requerimiento de proteína en el paco

Los estudios de nutrición con especies amazónicas son muy escasos y dispersos, la mayoría de ellos realizados en estanques de tierra. Eyzaguirre y Cordova (1973), hicieron los primeros estudios con el paco. Lovshin et al. (1974), en estudios preliminares en estanques de tierra fertilizados con estiércol de ganado, obtuvo para el paco pesos promedios de 992g, en 360 días de cultivo, utilizando una dieta con 29% de proteína y una densidad de carga de 2632 peces/ha. Cuando se incrementó la densidad de carga a 4400 peces/ha y se incrementó el nivel de proteína de la dieta a 35%, el rendimiento fue de 4605 kg/ha. Da Silva et al. (1978), encontró mejores rendimientos para esta especie a una densidad de carga de 5000 peces/ha. Carneiro (1983) encontró que una dieta con 30% de proteína bruta y 2900 kcal de ED permitía un mejor rendimiento en el paco.

Gutiérrez et al. (1996), evaluó seis dietas experimentales que contenían dos niveles de proteína bruta (27,4 % y 29,8 %) y tres niveles de energía digestible (2700, 2900 y 3100 kcal/Kg. de alimento) por cada nivel de proteína para determinar los requerimientos de proteínas y energía y la relación óptima energía/proteínas para alevinos de paco en condiciones controladas. El análisis estadístico demostró que niveles mínimos de 29,8% de proteína bruta y 2700 kcal de energía digestible/Kg. de alimento son los requeridos por juveniles de paco en dietas de crecimiento para obtener una adecuada ganancia de peso y una eficiente retención de proteínas, con una relación energía digestibles/proteínas de 9,0 Kcal/g de proteínas.

Vásquez-Torrez et al. (2011), seis dietas isoenergéticas (3080 kcal ED) semi-purificadas fueron formuladas a diferente nivel de proteína (16, 20, 24, 28, 32 y 36%) Los resultados

mostraron que el consumo de alimento, conversión alimenticia, ganancia de peso de los peces, tasa de crecimiento específico, eficiencia y el valor productivo de las proteínas se vieron afectadas por el nivel de proteína en la dieta ($P < 0.05$). No hubo diferencias significativas observada en la composición proximal de la carcasa ($P < 0.05$) en respuesta a la proteína dietética. Análisis del nivel de proteínas en la dieta con la ganancia de peso en una regresión polinomial de segundo orden sugiere un requerimiento de 31,6% de CP para un crecimiento óptimo.

2.6. Metodología para determinar el requerimiento de proteína

Existen diferentes métodos para estimar un requerimiento de nutrientes:

2.6.1. El enfoque factorial

Se obtienen los requerimientos diarios para un animal individual en un punto específico en el tiempo mediante la combinación de las necesidades estimadas para el mantenimiento y la producción (crecimiento hipotético) (Pomar et al., 2003).

2.6.2. El enfoque empírico (Dosis - Respuesta)

Los requerimientos nutricionales se definen como la cantidad mínima de nutrientes necesarios para maximizar o minimizar la respuesta de las poblaciones de uno o varios criterios de rendimiento durante un período determinado (Pomar et al., 2003).

En la alimentación animal, es habitual para llevar a cabo experimentos de dosis-respuesta para estimar los requerimientos de aminoácidos. La exigencia de un nutriente se puede definir como la cantidad mínima de este nutriente (dosis) necesaria para alcanzar el máximo rendimiento (respuesta) suponiendo que todos los demás nutrientes se proporcionan en cantidades adecuadas (Ajinomoto, 2012). Este método consiste precisamente en probar diferentes concentraciones de un nutriente y luego determinar a través de métodos estadísticos, que ofrece mejor nivel de rendimiento. Existe una parte importante de la variabilidad en los requerimientos de nutrientes, y estos se debe a los diversos protocolos realizados y la interpretación de los resultados (Dawkins, 1983). Existen diferentes modelos para determinar el requerimiento de un nutriente bajo este enfoque.

a) Análisis de pruebas de rango múltiple

Los primeros estudios sobre los niveles requeridos estimados de nutrientes en peces se hicieron mediante la aplicación de una prueba de rango (ANOVA) con los datos de las pruebas dosis-respuesta (Bureau y Encarnacao, 2006). Este enfoque tiene un valor limitado, ya que no indica con precisión el nivel de nutrientes necesaria para maximizar la respuesta de crecimiento o la de conversión alimenticia. Se ha sugerido ajustar curvas de respuesta a los datos experimentales de los estudios de dosis-respuesta (Cowey, 1994; Rodehustcord y Pack, 1999). Es así que los requerimientos de proteína se pueden calcular a partir del análisis de regresión entre la proteína consumida y la ganancia de peso u otra variable determinada (Hurwitz et al., 1978).

b) Modelo Línea Quebrada

El modelo de línea quebrada es por ahora el modelo más popular utilizado en la investigación nutrición de los peces. Este modelo lineal asume que un animal en crecimiento responderá de forma lineal a la suplementación de un nutriente hasta que se cumpla el requerimiento exacto (línea ascendente), después de los cual ninguna otra adición del nutriente mejorará la respuesta del animal (línea horizontal) (Bureau y Encarnacao, 2006).

La ecuación general del modelo de línea discontinua es:

$$y = \langle M ; \text{si } x > \text{requerimiento} \mid M - b * (R - x) ; \text{si } x \leq \text{requerimiento} \rangle$$

Donde y es la respuesta del animal, x es la concentración del nutriente o energía en el alimento, M es la ganancia máxima cuando x es mayor al requerimiento y b es la pendiente

Lamentablemente este modelo no toma en cuenta el principio biológico a menudo referido como "ley de los rendimientos decrecientes", por lo que se proponen otros métodos cuadráticos, exponenciales (Rodehustcord et al., 1995a, 1997.) y la sigmoideal (Mercer et al., 1989; Gahl et al., 1991) son los que han sido más ampliamente utilizados en los estudios de requerimientos.

Estudios de Bureau y Encarnacao (2006) y de Rodehustcord et al. (1997) indican que los valores requisito propuesto por el NRC (1993) para la trucha arco iris en aminoácidos están significativamente por debajo de lo que se requiere para maximizar las ganancias de peso. Esto es principalmente un resultado del hecho de que el análisis de línea quebrada defendido

por NRC (1993) no representa fielmente la respuesta del animal al aumento de los niveles de este aminoácido. La intersección de las dos funciones lineales está claramente por debajo del nivel para maximizar el peso (Burauu y Encarnacao, 2006).

c) **Modelo Cuadrático Polinomial**

Se basa en la suposición de que existe un cierto nivel de entrada que da como resultado el máximo rendimiento, el requerimiento. Utilizando el método de mínimos cuadrados ordinarios para ajustar los modelos polinomiales de segundo orden. (Pesti et al., 2009)

Los polinomios de segundo orden describen las relaciones llamadas "productividad marginal decreciente". El aumento de la concentración del nutriente en la dieta tiene una contribución extra en la variable respuesta, pero esta contribución va disminuyendo a medida que se va alcanzando el máximo biológico, y posteriormente una disminución en el rendimiento cuando se alcanza la toxicidad. Con un polinomio de segundo orden, se espera que la adición de unidades extra del nutriente por encima del requisito disminuya la respuesta (Pesti et al., 2009). Los niveles máximos de rendimiento (o mínimos de criterios tales como la tasa de conversión alimenticia), son fáciles de determinar (mediante el establecimiento de la primera derivada igual a 0 y despejando "x")

Su modelo es el siguiente

$$Y = a + bX + cX^2$$

Donde, Y es la variable dependiente, X es la concentración del nutriente en la dieta y a, b, c son constantes de la ecuación.

Lamentablemente la meseta de la curva no describe bien las respuestas nutricionales, dado que no se mantiene estable y decae muy rápido. Lo cual no siempre se resulta exactamente igual en el mundo biológico (Pesti et al., 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y periodo de duración

La investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos (LINAPC) que pertenece al Departamento Académico de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), La Molina, Lima. La elaboración del alimento balanceado se realizó en la Planta de Alimentos Balanceados del Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos, Facultad de Zootecnia.

El análisis proximal de las dietas, torta de soya, harina de soya integral extruida, y harina de pescado fueron determinadas en el Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos La Molina Calidad Total Laboratorios; El análisis proximal en las heces, fueron determinadas en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la UNALM, la determinación de la concentración de cromo en las dietas y heces se realizó en el laboratorio World Survey Services Peru S.A.C. (W.S.S) y la determinación de la energía bruta se determinó en el Instituto de Investigación Nutricional (IIN).

La fase experimental se realizó en dos partes; la primera consistió en la determinación de la digestibilidad y energía digestible de ingredientes proteicos en el Paco (*Piaractus Brachypomus*) en acuarios para pruebas de digestibilidad con una duración de 12 semanas; la segunda consistió en la determinación del requerimiento proteico del Paco (*Piaractus Brachypomus*) en acuarios para pruebas de crecimiento con una duración de 6 semanas.

3.2. Instalaciones, equipos y materiales

Las instalaciones del LINAPC, cuenta con un moderno sistema de recirculación, el cual permite el control de los estándares de calidad de agua óptimo para la especie en estudio. El laboratorio cuenta con dos acuarios de adaptación (120 litros de capacidad), 18 acuarios para pruebas de crecimiento y nueve acuarios para pruebas de digestibilidad (Anexo 1 y 2).

Para el primer experimento, se utilizaron doce acuarios de digestibilidad tipo *Guelph* de fibra de vidrio, de color blanco, liso por dentro y afuera, y frontis de vidrio de 6 mm de grosor con capacidad de 54 litros, con medidas de 45 cm. de ancho, 45 cm. de profundidad, 50 cm. de altura y base en plano inclinado (ángulo 13°) para la colección de las heces.

Durante el proceso de recolección de heces se utilizaron mallas metálicas de 100 µm de abertura, recipientes de plástico, como depósito del agua filtrada, cucharilla espátula de metal para retirar las heces de la malla metálica, placas Petri para colocar las heces colectadas, balanza electrónica marca UWE modelo JW-250 con 0.005 g de precisión para pesar las heces y el alimento; estufa con rango de 25-350°C, para secar las heces; refrigerador, para almacenarlas y conservarlas.

Para el segundo experimento, se utilizaron 15 acuarios de crecimiento, de 55 a 75L de capacidad, de fibra de vidrio de color blanco, liso por dentro y por fuera, y frontis de vidrio, de 50cm de alto, 47 cm de ancho y 47 cm de profundidad. Durante el manejo de los alevines se utilizó mallas *Sera*, recipientes de plástico para el control biométrico, placas Petri, una balanza electrónica marca UWE modelo JW-250 con 0.005 g de precisión para pesaje de alimento suministrado y para la obtención del peso individual de cada alevín, además se utilizó una cinta métrica, para medir la talla de los peces y obtener así el incremento de talla total de la respectiva unidad experimental.

En la medición de la calidad de agua se utilizaron los siguientes equipos y kits colorimétricos:

- Temperatura: Termómetros electrónicos de la marca *Digital thermometer*. Su rango de medición es de 0 – 40 °C, con 0.01°C de precisión.
- Oxígeno Disuelto: Monitor de oxígeno (oxímetro) de la marca *PinPoint II*. Su rango de medición es de 0.0-20.0 mg/L.
- Potencial Hidrogeno (pH): pHmetro, marca *Oaklon*, con rango de medición de 1.0 – 15.0 pH, con 0.1 de precisión.
- Dureza: El kit colorimétrico de dureza marca *LaMotte*, proporcionan una exactitud dentro de la gama habitual de 0-200 ppm, con una sensibilidad de 4 ppm de carbonato

de calcio (CaCO₃).

- Nitrógeno Amoniacal: Medidor de nitrógeno amoniacal, marca *Hanna*, con rango de medición de 0.00 – 3.00 mg/L. 3.2.6.
- Nitrito: kit colorimétrico de tres reactivos de la marca *Sera*. El rango de medición es de 0.3 – 16.5 mg/L.

3.3. Evaluación de la calidad de agua

El agua que se utilizó para alimentar el sistema de recirculación provenía de la red de agua potable pública del distrito de La Molina. Los parámetros de calidad del agua se midieron en tres acuarios indistintamente, durante ambos experimentos. El oxígeno disuelto, dureza, pH, nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos se midieron 3 veces por semana (lunes, miércoles y viernes) a cualquier hora del día, mientras que la temperatura del acuario y temperatura ambiental, se midieron en tres momentos del día (8.00am; 12.00m y 5.00pm). La limpieza de los acuarios, filtros y recambio del 20% de agua del sistema se realizó dos veces por semana (martes y viernes). Todas las mediciones se realizaron directamente del agua de los acuarios en evaluación, manteniendo las siguientes condiciones: oxígeno disuelto 6mg/L, el pH entre 7 – 8, temperatura 28°C y amonio menor a 1 ppm.

3.3.1. Parámetros de calidad de agua durante el experimento de digestibilidad

Los parámetros de calidad de agua, tales como temperatura, pH, oxígeno disuelto, dureza, etc. que se presenta en el Cuadro 4 y Anexo 3, muestran que se mantuvieron los parámetros óptimos de calidad de agua para el desarrollo de los pacos. Los peces dependen de una buena calidad de agua para su crecimiento, y entre los factores que destacan en este aspecto, son el tenor de oxígeno disuelto en el medio, la temperatura y el potencial de hidrogeniones, ya que son los reguladores de sus actividades metabólicas (Senhorini y Fransozo, 1994).

Con respecto a la concentración de oxígeno disuelto, el paco es una especie que resiste a bajas concentraciones de oxígeno disuelto: 1 a 3 mg/L (Díaz y López, 1995). Así mismo si bien es cierto las especies tropicales no son muy exigentes en oxígeno disuelto como los salmónidos, es definitivo que influyen su crecimiento, por lo que, para un crecimiento adecuado de los peces, el tenor de oxígeno disuelto siempre debe ser superior a 3 mg/L, valores inferiores a este provocan una reducción en la conversión alimenticia y un aumento

de los efectos perjudiciales resultantes de la degradación de metabolitos (Rebaza et al., 2002). En el experimento la concentración de oxígeno fue de 8.16 mg/L. estando dentro en el rango recomendado por OLDEPESCA (2010), quien recomienda valores entre 4 a 12 mg/L. La temperatura del agua es una variable importante en el cultivo de peces y está directamente relacionada con los procesos fisiológicos como la tasa de respiración, eficiencia en la alimentación y asimilación, crecimiento, comportamiento y reproducción (Timmons et al., 2002). La temperatura del agua durante la fase experimental fue en promedio de 27.37 °C, estando dentro en el rango recomendado por OLDEPESCA (2010). El paco es una especie que tolera amplios rangos de pH: 3.5 a 11, pero, las mejores aguas para la piscicultura son aquellas que presentan pH neutro o ligeramente alcalino (entre 7 - 8) (Boyd, 1996). OLDEPESCA (2010) menciona que para que sea adecuado el crecimiento del paco, el pH debe estar entre 6.5 – 8.5, en el experimento el pH se mantuvo constante con un valor de 7.4.

Cuadro 4: Parámetros de calidad de Agua durante el experimento de digestibilidad

Parámetros	Hora	Promedio final
Temperatura de Acuarios, °C	8.00 am	26.71
	12.00 m	27.70
	4.00 pm	27.69
Temperatura Ambiental, °C	8.00 am	23.70
	12.00 m	24.53
	4.00 pm	24.58
Oxígeno disuelto, mg/L		8.16
Dureza, ppm		146.67
pH		7.40
Amonio, mg/L		0.30
Nitrito, mg/L		0.25

3.3.2. Parámetros de calidad del agua en el experimento de requerimiento

Los parámetros de calidad de agua, tales como temperatura, pH, oxígeno disuelto, dureza, nitrógeno amoniacal y nitrito que se presenta en el Cuadro 5 y Anexo 4, muestran que se mantuvieron los parámetros óptimos de calidad de agua para el desarrollo de los pacos.

La temperatura del agua durante la fase experimental fue en promedio de 27.67 °C, estando dentro en el rango recomendado por OLDEPESCA (2010), quien menciona que el rango ideal para la especie tropical es de 25 a 32°C, siendo esta un factor importante en los procesos fisiológicos del pez. Con respecto a la concentración de oxígeno disuelto, como ya se mencionó, las especies tropicales no son muy exigentes en oxígeno disuelto como los salmónidos, sin embargo, influyen en su crecimiento, por lo que, para un crecimiento adecuado de los peces, el tenor de oxígeno disuelto siempre debe ser superior a 3 mg/L (Rebaza et al., 2002). En el experimento la concentración de oxígeno fue de 8.38 mg/L, estando dentro en el rango recomendado por OLDEPESCA (2010), quien recomienda valores entre 4 a 12 mg/L. Esta especie tropical tolera amplios rangos de pH: 3.5 a 11, pero según Boyd (1996) las mejores aguas para la piscicultura son aquellas que presentan pH neutro o ligeramente alcalino (entre 7 - 8). OLDEPESCA (2010) menciona que para que sea adecuado el crecimiento del paco, el pH debe estar entre 6.5 – 8.5, en el experimento el pH se mantuvo en promedio con un valor de 7.32.

Cuadro 5: Parámetros de calidad de Agua durante el experimento de requerimiento

Parámetros	Hora	Promedio final
Temperatura de Acuarios, °C	8.00 am	27.52
	12.00 m	27.77
	4.00 pm	27.72
Temperatura Ambiental, °C	8.00 am	23.88
	12.00 m	24.72
	4.00 pm	24.65
Oxígeno disuelto, mg/L		8.38
Dureza, ppm		120.00
pH		7.32
Amonio, mg/L		0.30
Nitrito, mg/L		0.25

3.4. Experimento I: Determinación de digestibilidad y energía digestible

3.4.1. Animales experimentales

En este primer experimento, en donde se determinó la digestibilidad de nutrientes y energía digestible de ingredientes proteicos en el Paco (*Piaractus brachypomus*), Se adquirió un total de 50 juveniles de Paco (*Piaractus brachypomus*) de 5 meses de edad y 223.17g, de peso vivo del fundo Palmeiras de la empresa Silver Corporation S.A.C, ubicado en la provincia

de Satipo, del departamento de Junín, a 628 msnm. Al llegar los peces al laboratorio LINAPC, se mantuvieron durante una semana en 2 acuarios de adaptación de 120 litros de capacidad cada uno. El primer día no se le suministro alimento, después se les brindo el alimento control a todos los peces. De la Población de 50 juveniles de Paco se seleccionarán al azar 48 peces y fueron distribuidos aleatoriamente en los acuarios de digestibilidad, correspondiendo una unidad experimental, en un acuario con 4 juveniles de paco (Anexo 5).

3.4.2. Ingredientes evaluados

Los ingredientes proteicos evaluados fueron la torta de soya, harina de soya integral extruida y harina de pescado. Tanto la torta de soya como la harina de soya integral extruida son subproductos obtenidos a partir del grano de soya, mientras que la harina de pescado es el producto que se obtiene por reducción del contenido de humedad y grasa de pescado. El análisis químico de los ingredientes (Anexo 6); indica que la torta de soya en base fresca contiene un 6.9% de humedad y 46.9% de proteína, la harina de soya integral extruida contiene un 10.7% de humedad y 34.5% de proteína y la harina de pescado con un 8 % de humedad y 68.4% de proteína.

3.4.3. Tratamientos

Se establecieron 4 tratamientos, los cuales consistieron en 3 ingredientes prueba y la dieta de referencia.

- D1: Dieta de Referencia (DR)
- D2: Dieta DR + Harina de pescado.
- D3: Dieta DR + Torta de soya.
- D4: Dieta DR + Harina de soya integral extruida

3.4.4. Dietas experimentales

a) Preparación de las dietas experimentales

La elaboración de las dietas se realizó en la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM. Los distintos ingredientes y sus respectivas cantidades fueron mezclados, incorporando los

ingredientes de mayor a menor cantidad, se utilizó una mezcladora horizontal de cintas, durante 5 minutos. Posteriormente se utilizó la peletizadora Bühler, para obtener pellets de 3.0 mm de diámetro adecuado para el experimento.

b) Dietas

Se utilizó cuatro dietas experimentales las cuáles fueron las siguientes:

- Dieta de D1: Dieta Referencia; a partir de una dieta estándar para Paco, donde 99.5% será de la dieta estándar y 0.5% de óxido de cromo.
- Dieta de D2: Prueba con Harina de pescado; compuesto de 69.5% de dieta estándar, 0.5% de óxido de cromo y 30% de Harina de pescado.
- Dieta de D3: Prueba con Torta de soya; compuesto de 69.5% de dieta estándar, 0.5% de óxido de cromo y 30% de Torta de soya.
- Dieta de D4: Prueba con Harina de soya integral extruida; compuesto de 69.5% de dieta estándar, 0.5% de óxido de cromo y 30% de Harina de soya integral extruida.

La dieta estándar se obtuvo utilizando formulación al mínimo costo por programación lineal, la cual cubrió el requerimiento nutricional de los Pacos, se usó como referencia de requerimiento nutricional propuesto por Lafeta et al. (sf). En la preparación de la dieta de referencia se utilizaron ingredientes comerciales tales como harina de pescado, maíz amarillo duro, harinilla de trigo, torta de soya, aceite de soya y aditivos tales como premezcla de vitaminas y minerales, antioxidantes, etc. El óxido de cromo (Cr_2O_3) fue usado como un indicador inerte a una concentración de 0.5 por ciento de la dieta. En el Cuadro 6 se muestra la dieta comercial, la dieta referencial y las dietas prueba; en el anexo 7 el valor nutritivo de estas y en el Cuadro 7 la fórmula de la premezcla de vitaminas y minerales usados en las dietas.

Cuadro 6: Fórmulas de las dietas de la prueba de Digestibilidad y energía digestible para el Paco (Base fresca)

Ingredientes	TRATAMIENTOS			
	D1 ^a	D2 ^b	D3 ^c	D4 ^d
Maíz, %	33.88	23.72	23.72	23.72
Harina de Pescado 67, %	19.90	13.93	13.93	13.93
Torta de Soya 46, %	24.03	16.82	16.82	16.82
Harinilla de Trigo, %	15.19	10.30	10.30	10.30
Aceite de Soya, %	5.90	4.13	4.13	4.13
Premezcla acuicultura, %	0.20	0.20	0.20	0.20
Cloruro de Colina, %	0.10	0.10	0.10	0.10
Inhibidor de Hongos, %	0.10	0.10	0.10	0.10
Promotor de crecimiento, %	0.10	0.10	0.10	0.10
Ligante, %	0.08	0.08	0.08	0.08
Antioxidante, %	0.02	0.02	0.02	0.02
Cr2O3, %	0.50	0.50	0.50	0.50
Harina de Pescado 67, %		30.00		
Torta de Soya 46, %			30.00	
Harina de soya integral extruida 34, %				30.00
Total	100	100	100	100

(a) Dieta de referencia; (b) Dieta prueba con Harina de Pescado; (c) Dieta prueba con Torta de soya; (d) Dieta prueba con Harina de soya integral extruida

Cuadro 7: Fórmula de la premezcla de vitaminas y minerales

Nutriente	Cantidad
Vitamina A, U.I	14000000
Vitamina D3, U.I	2800000
Vitamina E, U.I	140000
Vitamina K3, g	8
Tiamina (B1), g	18
Riboflavina (B2), g	20
Niacina, g	150
Ácido Pantoténico, g	50
Piridoxina (B6), g	15
Biotina, g	0.8
Ácido Fólico, g	4
Ácido Ascórbico, g	315
Vitamina B12, g	0.03
Cloruro de Colina, g	600
Manganeso, g	40
Hierro, g	20
Zinc, g	20
Cobre, g	1.5
Yodo, g	1.5
Selenio, g	0.3
Cobalto, g	0.15
Antioxidante, g	120
Excipiente c.s.p., g	3000

Composición por 1 Kg

FUENTE: DMS Nutritional Products Peru S.A (2014)

3.4.5. Manejo experimental

De acuerdo con el protocolo de manejo de peces en laboratorio (LINAPC)

a) Recepción de los peces juveniles:

A la recepción los juveniles de paco fueron colocados en 2 acuarios especiales de adaptación de 120 litros de capacidad cada uno. Durante el periodo de adaptación, el cual tuvo una duración de 7 días, consistió en que el primer día no se le suministró alimento debido al estrés del viaje, después se les brindó el alimento estándar para la especie, preparado en la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM, tres veces al día a punto de saciedad.

b) Suministro de alimento:

El primer día del experimento los peces fueron alimentados con las dietas a evaluar solo en la tarde ya que en la mañana se realizó el traslado de los peces del acuario de adaptación a los acuarios de digestibilidad. En adelante los peces recibieron dos comidas diarias, ofrecidas a las 8:00 am y 6:00 pm, cada acuario fue alimentado pellet a pellet, con el fin de asegurar que todo el alimento ofrecido sea ingerido por los peces.

c) Recolección de heces:

El experimento se realizó en base a una modificación del método propuesto por Cho y Slinger (1979). Al inicio del ensayo los peces fueron alimentados con las dietas a evaluar durante tres días sin realizar la recolección de las heces. A partir del cuarto día se inició la recolección de las heces, 2 veces al día. Ya en el cuarto día, una hora después de la última alimentación cada acuario fue sometido a limpieza con el fin de eliminar del sistema los residuos de alimento y heces. Para lo cual un tercio del agua de cada acuario fue vaciado. El día siguiente, a las 8:00 am, las heces sedimentadas fueron cuidadosa y suavemente extraídas del tubo de sedimentación, filtrándolas a través de un tubo con malla de 100 μ m para luego ser colocadas en placas Petri con la ayuda de una cucharilla espátula, posteriormente fueron secadas en una estufa a 65°C por seis horas, para reducir la humedad, e inmediatamente congeladas a -15 °C y almacenadas. Una hora después de la última alimentación del día cada acuario de digestibilidad fue limpiado sifoneando a fin de eliminar del sistema los residuos de alimentos y heces, retirando así un tercio del agua de los acuarios para asegurar que el proceso de limpieza sea completo. Este procedimiento se repitió durante 12 semanas.

d) Análisis de Laboratorio

Se determinó el porcentaje de humedad, proteína, grasa y extracto libre de nitrógeno (ENL) de las dietas, torta de soya, harina de soya integral extruida, y harina de pescado en el Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos La Molina Calidad Total Laboratorios, y en el caso de las heces en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la UNALM. La humedad fue determinada empleando el método AOAC 934.01(2016), la proteína mediante el método AOAC 954.01(2016), la grasa mediante el método AOAC 920.39(2016) y ELN por diferencia MS-INN (1993). La energía bruta de las dietas y de las heces de cada unidad experimental, fue determinada en el laboratorio del IIN, para obtener la energía bruta se realizó el ensayo del valor calorífico empleando el método ASTM D-2015-66 (1972) (Anexo 6, 7 y 8). Finalmente, para la determinación de la concentración de óxido de cromo en las dietas y heces de cada unidad experimental se realizó análisis químico de cromo empleando el método interno (P-LQ-11 AA/N₂O ACET) en el laboratorio World Survey Services Peru S.A.C. (W.S.S) (Anexo 9).

3.4.6. Análisis de datos

a) Cálculo de coeficiente de digestibilidad aparente (CDA)

Las estimaciones del porcentaje de digestibilidad aparente se realizaron sobre la base de la cantidad de heces en cada una de las réplicas que fueron colectadas durante los 90 días de experimento. Con los resultados de laboratorio obtenidos de las dietas y heces colectadas se determinaron los Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) de las dietas para materia seca, proteína, grasa y energía bruta, posteriormente se utilizaron estos CDA de las dietas para determinar CDA de los ingredientes evaluados. Las ecuaciones utilizadas fueron las siguientes:

- Fórmula de la determinación del CDA de un nutriente o para energía bruta (EB) de la dieta (NRC, 2011)

$$CDA(d) = 100 - 100 \frac{\%Cr2O3d}{\%Cr2O3h} \times \frac{\%Nh}{\%Nd}$$

Dónde:

- CDA (d) = Coeficiente de digestibilidad aparente de un nutriente o EB de la dieta

- Cr₂O_{3d} = % de óxido de cromo en la dieta
- Cr₂O_{3h} = % de óxido de cromo en las heces
- Nd = concentración del componente en la dieta
- Nh = concentración del componente en las heces
- Fórmula de la determinación del CDA para cada nutriente o energía bruta del ingrediente prueba (NRC, 2011)

$$CDA(ing) = \frac{CDA(dp) - b * CDA(dr)}{a}$$

Dónde:

- CDA(ing) = Coeficiente de digestibilidad aparente del ingrediente prueba
- CDA(dp) = Coeficiente de digestibilidad aparente de la dieta prueba
- CDA(dr) = Coeficiente de digestibilidad aparente de la dieta referencial
- a = porcentaje del ingrediente prueba
- b = porcentaje de la dieta referencial
- Cálculo de la energía digestible y nutriente digestible de los ingredientes

Con los resultados que se obtuvieron del coeficiente de digestibilidad aparente de los ingredientes se determinaron los nutrientes digestibles mediante la siguiente fórmula.

$$DID(ND \text{ ó } ED \text{ ing.})(\%) = (N \text{ ó } EB \text{ ing.})x(CDAing)$$

Donde:

- DID (ND ó ED ing.): Nutrientes digestibles (ND) o energía digestible (ED) del ingrediente prueba.
- N ó EB ing.: Concentración de nutriente (N) o energía bruta (EB) del ingrediente prueba.
- CDA ing: Coeficiente de digestibilidad aparente del ingrediente prueba.

b) Parámetros estadísticos

Se utilizó la estadística descriptiva, empleando valores como promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad utilizando el programa MINITAB 17.

3.5. Experimento II: Determinación del requerimiento de proteína para el paco

3.5.1. Animales experimentales

En este segundo experimento se determinó el requerimiento proteico de alevines de Paco (*Piaractus brachyomus*); se adquirió un total de 200 alevines de Paco (*Piaractus brachyomus*) de 2 meses de edad con 2.61 g de peso vivo del fundo Palmeiras de la empresa Silver Corporation S.A.C, ubicado en la provincia de Satipo, del departamento de Junín, a 628 msnm. Al llegar los peces al laboratorio LINAPC, se mantuvieron una semana en 2 acuarios especiales de adaptación de 120 litros de capacidad cada uno. De la Población de 200 alevines de Paco, se seleccionaron al azar 150 y fueron distribuidos aleatoriamente en 15 acuarios de crecimiento; correspondiendo una unidad experimental, un acuario con 10 alevines de Paco.

3.5.2. Tratamientos

Se establecieron 5 tratamientos, con cinco niveles de proteína (26, 28, 30, 32 y 34%)

- Tratamiento T1: 26% proteína
- Tratamiento T2: 28% proteína
- Tratamiento T3: 30% proteína
- Tratamiento T4: 32% proteína
- Tratamiento T5: 34% proteína

3.5.3. Dietas experimentales

a) Preparación de las dietas experimentales

La elaboración de las dietas se realizó en la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM. Los distintos ingredientes y sus respectivas cantidades determinadas para cada dieta fueron mezclados, incorporando los ingredientes de mayor a menor cantidad, se utilizó una

mezcladora horizontal de cintas, durante 5 minutos. Posteriormente se utilizó la peletizadora Bühler, para obtener pellets de 2.0 mm de diámetro, los cuales fueron granulados, obteniéndose un tamaño de partícula adecuado para el experimento II.

b) Dietas experimentales

En esta fase se utilizó 5 dietas experimentales, las cuales se muestran detalladamente en el Cuadro 8, en donde se evaluó cinco niveles de proteína (26, 28, 30, 32 y 34%), las dietas fueron isoenergéticas, 3400 kcal de energía digestible (ED)/Kg. de alimento (este nivel alto de energía asegurará que la proteína no sea utilizada como energía por el pez).

Con respecto a la formulación de las dietas, los insumos proteicos en los diferentes niveles de proteína se mantuvieron en la misma proporción (en basa a proteína), para controlar el balance de aminoácidos y no cambie de dieta a dieta.

Las cinco dietas experimentales se obtuvieron utilizando la formulación al mínimo costo por programación Lineal, además se utilizó de referencia los coeficientes de digestibilidad y Energía digestible de los ingredientes encontrados en este mismo trabajo y los hallados por Lafeta et al. (sf). Además, en el Cuadro 7, se muestra la fórmula de la premezcla de vitaminas y minerales utilizada en las dietas.

3.5.4. Manejo experimental

De acuerdo con el protocolo de manejo de peces en laboratorio (LINAPC)

a) Recepción de los peces:

A la recepción los alevines de paco, estos fueron colocados en 2 acuarios especiales de adaptación de 120 litros de capacidad cada uno. El primer día no se le suministró alimento, después se les brindó el alimento estándar para la especie, preparado en la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM, tres veces al día a punto de saciedad, durante 7 días.

Cuadro 8: Formulas de las dietas para la determinación de requerimiento proteico y su valor nutritivo (Base fresca)

Ingredientes	Tratamientos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Maíz, %	48.40	41.23	34.07	26.87	19.67
Harina de Pescado 67, %	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Torta de Soya 46, %	14.63	19.40	24.17	28.90	33.67
Harinilla de Trigo, %	10.67	12.97	15.27	17.57	19.87
Aceite de Soya, %	5.70	5.80	5.90	6.07	6.20
Premezcla acuicultura, %	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Cloruro de Colina, %	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Inhibidor de Hongos, %	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Promotor de crecimiento, %	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Ligante, %	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Antioxidante, %	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Total	100	100	100	100	100
Valor nutritivo estimado					
Materia seca, %	89.67	89.80	89.93	90.07	90.20
Proteína bruta, %	26.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Fibra cruda, %	2.62	2.78	2.93	3.09	3.24
Grasa, %	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Energía Digestible, Mcal/Kg.	3.40	3.40	3.40	3.40	3.40
Lisina, %	1.66	1.81	1.95	2.10	2.24
Metionina, %	0.61	0.64	0.66	0.69	0.71
Cistina, %	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48
Arginina, %	1.63	1.80	1.97	2.14	2.30
Treonina, %	1.05	1.13	1.21	1.29	1.37
Triptófano, %	0.30	0.33	0.37	0.40	0.43
Valina, %	1.38	1.48	1.59	1.69	1.80
Met-Cis, %	0.98	1.03	1.08	1.14	1.19
AG. Omega-3, %	2.40	2.43	2.47	2.51	2.54
AG. Omega-6, %	1.48	1.38	1.28	1.18	1.08
Fosforo total, %	0.69	0.74	0.79	0.84	0.89
Calcio, %	0.80	0.82	0.83	0.85	0.86
Sodio, %	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25

b) Biometría de los peces:

En la biometría inicial, los alevines fueron uniformizados y distribuidos al azar en 15 acuarios (unidades experimentales) de 10 alevines por acuario. La biometría se realizó dos veces, al inicio de la experimentación y al finalizar ésta. Durante la biometría, los peces de cada acuario fueron colocados en un recipiente con agua, posteriormente se pesaron en una balanza electrónica, para la medición de la longitud del pez se utilizó un ictiómetro, donde se midió desde la boca hasta el punto medio de la aleta caudal, finalmente retornaban a sus respectivos acuarios.

c) Consumo de Alimento:

Se alimentó a los alevinos hasta el punto de saciedad, con una cucharita poco a poco, cuidando de no desperdiciar el alimento o que se acumule en el fondo. Se alimentó 5 veces al día desde las 8 de la mañana hasta las 8 de la noche, los siete días de la semana. La ración de alimento correspondiente fue pesada en un vaso de plástico etiquetado con el número del acuario, luego se pesó el alimento restante y por diferencia se obtuvo la cantidad de alimento consumido.

3.5.5. Parámetros productivos

Para establecer los parámetros productivos se realizó los controles biométricos al inicio, y al final de la prueba (6^{ta} semana), como también se controló el suministro y residuo de alimento diario.

a) Peso unitario y talla

Al inicio y al final de la prueba se registraron el peso unitario, la biomasa utilizando una balanza digital de precisión 0.005g y la longitud de los peces (talla) de cada acuario fueron medidos con un ictiómetro.

b) Ganancia de peso

La ganancia de peso y biomasa fueron hallados mediante la diferencia entre el peso final (Wt) y el peso inicial (W0) (Guillaume, 2004).

$$\text{Ganancia de Peso} = W_t - W_0$$

c) Incremento de talla

El incremento de talla fue hallado por diferencia entre la longitud final (L_t) y longitud inicial (L_0) (Guillaume, 2004).

$$\text{Incremento de talla} = L_t - L_0$$

d) Consumo de alimento total

El consumo de alimento fue hallado de la diferencia entre el suministro total (S_t) y el residuo (R) (Guillaume, 2004).

$$\text{Consumo total} = S_t - R$$

e) Conversión alimentaria

Se determinó dividiendo el alimento consumido en el periodo de alimentación (45 días), entre la ganancia de peso en dicho periodo (Díaz y López, 1995).

$$\text{Conversión alimentaria} = \frac{\text{Alimento consumido}}{\text{Incremento de peso}}$$

3.5.6. Análisis de Datos

a) Análisis Estadístico:

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con cinco tratamientos (niveles de proteína) y tres repeticiones cada uno. El modelo aditivo lineal general aplicado será el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

- Y_{ij} = Variable respuesta que se obtiene de la unidad experimental que recibió el i -ésimo tratamiento y la j -ésima repetición ($j=1, 2, 3$)
- μ = Media aritmética general de la población
- t_i = Efecto del i -ésimo tratamiento ($i=1, 2, 3, 4, 5$)
- ε_{ij} = Efecto de la j -ésima unidad experimental a la que se le aplicó el i -ésimo tratamiento (error experimental).

El análisis de varianza se realizó aplicando el procedimiento ANOVA del programa MINITAB 17 y para la comparación de medias de los parámetros se empleó la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

b) Análisis de regresión segmentada

Para determinar el requerimiento de proteína las variables respuesta se sometieron al modelo de regresión de línea quebrada y polinomial cuadrática, donde los niveles de proteína analizados fueron las variables independientes, y las variables dependientes fueron ganancia de peso y conversión alimenticia.

- La ecuación general del modelo de línea quebrada propuesta por Burou y Encarnacao, (2006), es la siguiente:

$$Y = \langle M ; \text{si } x > \text{requerimiento} \mid M - b * (R - x) ; \text{si } x \leq \text{requerimiento} \rangle$$

Donde:

- Y = Ganancia de peso del pez o conversión alimenticia a X nivel de proteína cruda
 - x = Nivel de proteína cruda de la dieta
 - M = Es la ordenada en el punto de inflexión del modelo
 - R = es la abscisa en el punto de inflexión del modelo
 - b = Pendiente
- Ecuación para el análisis de regresión cuadrático propuesta por Pesti et al. (2009), es la siguiente:

$$Y = a + bX + cX^2$$

Donde:

- Y = Peso vivo del pez o conversión alimenticia a X nivel de proteína cruda de la dieta
- X = Nivel de proteína cruda de la dieta
- a, b, c = son constantes de la ecuación

Las constantes de estas ecuaciones fueron halladas con el paquete estadístico Solver-Excel.

3.5.7. Determinación de requerimiento

Se determinó el requerimiento proteico bajo los siguientes análisis

a) Pruebas de rango múltiple - Tukey

El requerimiento se estableció como el menor nivel de proteína bruta del alimento que da como una respuesta que no es significativamente diferente de la respuesta máxima bajo la Prueba Tukey de comparación de medias (Zeitou, 1973 y 1974).

b) Modelo Línea Quebrada

El requerimiento se estableció como la abscisa del punto de inflexión del modelo la cual se determinó mediante el Software Solver-excel (Robbins et al. 1979).

c) Modelo Polinomial Cuadrático

El requerimiento se estableció bajo el criterio de la primera derivada que permite obtener los máximos y mínimos relativos, donde la ecuación polinomial cuadrático luego de ser derivada es igualada a cero, obteniendo de esta manera el valor de la variable independiente que permite la máxima respuesta de la variable dependiente (Pesti et al., 2009).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de digestibilidad y energía digestible de ingredientes proteicos para el paco

4.1.1. Digestibilidad aparente de los ingredientes evaluados

En la evaluación de ingredientes para su uso en la alimentación de peces, uno de los aspectos que se investiga para definir su potencial es la digestibilidad de sus nutrientes (Glencross et al., 2007). En el Cuadro 9 se presentan los resultados de los análisis químicos de las dietas y heces de cada grupo experimental, con los cuales se determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de la harina de pescado, torta de soya y harina de soya integral extruida, presentes en el Cuadro 10 y Anexo 10.

Los valores observados en cuanto a CDA para la materia seca (MS) hallado son 67.35 ± 1.51 por ciento para la Harina de pescado, 69.88 ± 2.17 por ciento para la Torta de soya y 67.41 ± 3.28 por ciento para la Harina de soya integral extruida. Con respecto a estos valores, se observa que los valores de CDA son similares tanto para ingredientes de origen vegetal como para ingredientes de origen animal, apreciando así la versatilidad del paco (*Piaractus brachypomus*) como un pez omnívoro.

Con respecto al CDA de la MS de la harina de pescado, este resultado es similar a lo reportado por Lafeta et al. (sf), Gutiérrez-Espinoza et al. (2012), Vásquez-Torres et al. (2013), quienes obtuvieron los valores de 69.24, 62.50 y 76.2 ± 1.1 por ciento de CDA de la MS en el paco respectivamente; sin embargo, el valor hallado en este experimento es inferior a lo reportado por Fernández et al. (2004), cuyo valor obtenido fue 90.14 ± 5.78 por ciento para el paco; esto nos indica que no todas las harinas de pescado son similares y va a depender principalmente del tipo de materia prima utilizada (especie de pez) para la elaboración de esta, según Allen et al. (2000) en su investigación obtuvo un amplio rango de valores (76.8-93.9 por ciento de CDA de la MS) en diferentes tipos de peces en Australia.

Cuadro 9: Análisis químico de las dietas y heces de la prueba de digestibilidad (Tal como ofrecido)

	MS dieta (%)	MS heces (%)	Proteína dieta (%)	Proteína heces (%)	EE dieta (%)	EE heces (%)	ELN dieta (%)	ELN heces (%)	EB dieta* (Mcal/kg)	EB heces* (Mcal/kg)	Oxido de cromo en la dieta** (%)	Oxido de cromo en la dieta** (%)
Dieta Referencial	93.50	90.55	31.30	12.09	10.50	1.64	42.90	53.03	4.45	3.91	0.51	1.1
Dieta Prueba con Harina de pescado	92.30	91.75	42.40	18.52	9.00	1.79	29.50	43.16	4.59	3.81	0.49	1.19
Dieta Prueba con Torta de soya	92.30	91.89	36.20	16.73	8.90	2.81	37.00	48.76	4.28	3.98	0.43	1.06
Dieta Prueba con Harina de soya integral extruida	91.80	91.97	31.60	13.58	12.40	3.14	38.60	47.47	4.22	3.97	0.4	0.97

MS = Materia seca

EE = Extracto etéreo

ELN = Extracto libre de nitrógeno

EB = Energía bruta

*Determinación de la energía bruta realizada en el Instituto de Investigación Nutricional (IIN)

** Calculo de óxido de cromo a partir del análisis de cromo realizado en el laboratorio World Survey Services Peru S.A.C. (W.S.S).

Cuadro 10: Contenido nutricional y digestibilidad de la harina de pescado, torta de soya, harina de soya integral extruido (Base seca)

	Harina de pescado	Torta de soya	Harina de soya integral extruida
Contenido nutricional (%) y EB (Mcal/kg)			
Materia Seca	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda	74.35	50.38	38.63
Extracto etéreo	8.26	3.54	22.06
Extracto libre de nitrógeno	0.00	33.83	33.37
Energía Bruta	4.62	4.63	5.59
Coefficientes de digestibilidad aparente (%)			
Materia Seca	67.35±1.51	69.88±2.17	67.41±3.28
Proteína cruda	82.43±1.67	80.18±1.79	83.85±7.38
Extracto etéreo	89.81±2.72	75.57±1.72	83.58±1.30
Extracto libre de nitrógeno	0.00	54.65±6.6	64.69±3.11
Energía Bruta	80.46±2.38	69.06±2.75	66.11±3.60
Nutrientes digestibles en base seca			
Materia Seca (g MS)	67.35	69.88	67.41
Proteína cruda (g PC)	61.29	40.39	32.39
Extracto etéreo (g EE)	7.42	2.68	18.44
Extracto libre de nitrógeno (g ELN)	0.00	18.49	21.59
Energía Digestible (Mcal/kg)	3.72	3.20	3.69

En cuanto a la torta de soya el valor hallado es inferior a lo reportado por Fernández et al. (2004), quien obtuvo un CDA de MS de 83.72 ± 6.86 por ciento para el paco, sin embargo, el valor hallado es superior a lo reportado por Lafeta et al. (sf) y Vásquez-Torres et al. (2013), cuyos valores obtenidos fueron 63.19 y 62.50 ± 0.6 por ciento de CDA de MS respectivamente para el paco.

Con respecto a la harina de soya integral extruida, el valor CDA de la MS hallado es superior a lo determinado por Vásquez-Torres et al. (2013), 44.2 ± 1.8 por ciento para el paco. Y similar al CDA de la MS de la torta de sachá inchi extruida determinada por Canales (sf), 68.92 ± 0.3 por ciento para la gamitana.

Los valores observados en cuanto a la CDA para la proteína (PC) hallados son 82.43 ± 1.67 por ciento para la Harina de pescado, 80.18 ± 1.79 por ciento para la Torta de soya y 83.85 ± 7.38 por ciento para la Harina de soya integral extruida. Con respecto a estos valores, se observa que los CDA son similares tanto para ingredientes de origen vegetal como para ingredientes de origen animal para el paco.

Con respecto a la harina de pescado el CDA de la PC hallado es inferior a lo reportado por Fernández et al. (2004) y Vásquez-Torres et al. (2013), 90.49 ± 4.98 y 85.0 ± 0.3 por ciento respectivamente en el paco, además también es inferior a los resultados obtenidos por Gutiérrez-Espinosa et al. (2011), quien determinó un CDA de la PC de 90.90 ± 2.4 por ciento en la *Oreochromis niloticus*, sin embargo, es superior a los resultados obtenidos por Gutiérrez-Espinosa et al. (2012) y Lafeta et al. (sf), siendo estos 77.2 y 79.61 por ciento respectivamente para el paco.

En cuanto a la torta de soya, el CDA de la proteína hallada es similar a lo presentado por Lafeta et al. (SF) y Gutiérrez-Espinosa (2008), siendo 83.2 ± 1.6 y 81.84 por ciento respectivamente para el paco, por otro lado el valor hallado también es similar a lo determinado por Barboza (2016), 82.76 ± 0.79 para la gamitana.

Sin embargo, lo determinado en este experimento es inferior al resultado obtenido por Vásquez-Torres et al. (2013), quien determinó un CDA de la proteína de 92.1 ± 0.7 para el paco; por otro lado, este valor hallado es superior a lo determinado por Fernández et al.

(2004), 75.88 ± 7.95 por ciento para el paco. Para Abimorad et al. (2008) los CDA de aminoácidos varían entre 88.1 y 95.7% y entre 86.2 y 95.4% para los aminoácidos esenciales y no esenciales respectivamente, esto indica que para peces del género *Piaractus* la torta de soya es una materia prima proteica de origen vegetal de alta digestibilidad, muy apropiada para la formulación de raciones para crecimiento.

Con respecto a la harina de soya integral extruida, el CDA para la proteína hallado es similar a lo determinado por Gutiérrez-Espinosa et al. (2008) y Vásquez-Torres et al. (2013), los cuales obtuvieron 81.1 ± 0.5 y 84.8 ± 1.4 por ciento respectivamente para el paco, sin embargo, es inferior a lo determinado por Abimorad y Carneiro (2004), el cual halló un CDA para PC de 92.04 ± 2.74 por ciento para el paco. Gutiérrez-Espinosa et al. (2008) determinó un CDA de proteína en la soya cruda de 75.6 ± 3.7 por ciento para el paco y mencionó que este resultado es inferior a lo determinado para la torta de soya como para la harina de soya integral extruida, lo cual puede ser el reflejo de una respuesta específica de la especie a los factores anti nutricionales que presenta la soya.

El CDA para los lípidos (EE) hallado en este experimento es 89.81 ± 2.72 por ciento para la harina de pescado, 75.57 ± 1.72 por ciento para la torta de soya y 83.58 ± 1.30 por ciento para la harina de soya integral extruida. Según estos resultados el extracto etéreo de ingredientes de origen animal es más digestible que de los ingredientes de origen vegetal.

Con respecto al CDA de lípidos de la harina de pescado, el resultado determinado es similar a lo obtenido por Lafeta et al. (SF), quién obtuvo 88.03 por ciento para el paco. Sin embargo, el valor hallado es superior a lo reportado por Fernández et al. (2004), quien obtuvo 77.00 ± 7.64 por ciento.

En cuanto al CDA de lípidos para la torta de soya, el valor hallado es superior a lo determinado por Fernández et al. (2004) y Lafeta et al. (sf), 63.03 ± 6.35 y 70.10 por ciento en el paco. Por otro lado, este valor es similar a lo determinado por Barboza (2016) en la gamitana, el cual fue de 72.42 ± 1.52 por ciento, y es inferior al CDA de lípidos de la torta de sachá inchi cruda, determinado por Camacho (sf) para la gamitana, el cual obtuvo 90.61 ± 1.3 por ciento.

Los valores de CDA de extracto etéreo hallado para la Harina de soya integral extruida es superior a lo determinado en la torta de soya en este experimento, y superior a lo determinado por Barboza (2016) en la torta de soya para la gamitana, el cual fue 72.42 ± 1.52 por ciento. Sin embargo, el CDA de lípidos hallado es inferior a lo determinado para la torta de sachá inchi extruida por Canales (2013), siendo 93.88 ± 0.1 por ciento para la gamitana.

Finalmente, los valores determinados en cuanto a CDA para los carbohidratos (ELN) hallados son 54.65 ± 6.6 por ciento para la Torta de soya y 64.69 ± 3.11 por ciento para la harina de soya integral extruida, observando de este modo que la harina de soya integral extruida tiene una mayor digestibilidad de carbohidratos que la torta de soya.

Con respecto al CDA de ELN de la torta de soya, este resultado supera ampliamente a lo determinado por Barboza (2016) y Camacho (sf), quienes obtuvieron una digestibilidad de 36.91 ± 2.61 por ciento en la torta de soya y 10.18 ± 0.88 por ciento en la torta de sachá inchi cruda para la gamitana.

En cuanto al CDA de ELN de la harina de soya integral extruida el resultado obtenido es superior al hallado en torta de sachá inchi extruido, determinado por Canales (sf), quien obtuvo una digestibilidad del ELN de $42,28 \pm 2.44$ por ciento en gamitana.

4.1.2. Energía Digestible

Los valores de energía digestible (ED) determinados de los ingredientes evaluados se muestran en el Cuadro 10 y Anexo 11. Siendo 3.72 Mcal/kg para la harina de pescado, 3.20 Mcal/kg. para la torta de soya y 3.69 Mcal/kg. para la harina de soya integral extruida.

Con respecto a la energía digestible hallada para la harina de pescado, este es similar a lo determinado por Lafeta et al. (sf) y Fernández et al. (2004), quienes obtuvieron 3.76 y 3.83 Mcal/kg respectivamente para el paco. Sin embargo, el valor hallado es inferior lo obtenido por Vásquez-Torres et al (2013), quien determinó 4.09 Mcal/kg para el paco. Además, es inferior a lo obtenido por Gutiérrez et al. (2009), siendo 3.950 Mcal/kg para *Colossoma macropomum*. En comparación con la torta de soya, la harina de pescado presento una mayor energía digestible debido a que tiene un alto contenido de lípidos, y en este experimento demostró una mayor digestibilidad de lípidos, además la oxidación de estos lípidos produce

aproximadamente el doble de energía que de los carbohidratos y proteínas; y que este se ve favorecido por el bajo nivel de fibra cruda contenida en el ingrediente.

En cuanto a la torta de soya, el valor de energía digestible hallada es inferior a lo determinado por Vásquez-Torres et al. (2013), quien obtuvo 3.65 Mcal/kg. para el paco, por otro lado el valor hallado fue superior a lo determinado por Lafeta et al (sf) y Fernández et al (2004), quienes obtuvieron 3.09 y 2.38 Mcal/kg para el paco. Además, también es superior a lo determinado por Barboza (2016), quien obtuvo 2.97 Mcal/kg para el *Colossoma macropomum*.

Finalmente, los valores determinados para la digestibilidad de la energía en la harina de soya integral extruida en este experimento son superior a lo determinado por Vásquez-Torres et al (2013), quien obtuvo 3.14 Mcal/kg. para el paco y superior a lo de terminado por Gutiérrez-Espinoza (2008), quien obtuvo un 2.78 Mcal/kg en el paco. Por otro lado, es similar a lo determinado en la torta de sachu inchi extruida por Canales (sf), quien obtuvo 3.71 Mcal/kg en *Colossoma macropomum*.

4.2. Determinación del requerimiento proteico para el paco

4.2.1. Requerimiento mediante análisis de medias Tukey

El efecto del nivel proteico de la dieta sobre el comportamiento productivo de juveniles de paco en el experimento se muestran en el Cuadro 11 y Anexo 12. Con respecto al peso final, se aprecia que los tratamientos I y II obtuvieron similar peso final, pero estos fueron menores en comparación con el tratamiento III, IV y V ($\alpha = 0.05$); y que los tratamientos III, IV y V obtuvieron similar peso final ($\alpha = 0.05$). Para la ganancia de peso, se observa que los tratamientos I y II obtuvieron semejante ganancia de peso, pero este fue menor en comparación con el tratamiento III, IV y V ($\alpha = 0.05$); y que los tratamientos III, IV y V obtuvieron igual ganancia de peso ($\alpha = 0.05$). Para el consumo de alimento no se registraron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los tratamientos, pero si se observan diferencias numéricas donde el tratamiento I registra el menor consumo de alimento; y el tratamiento V registra el mayor consumo de alimento. Finalmente, para la conversión alimenticia se observa que los tratamientos II y III obtuvieron similar resultado, además los tratamientos III, IV y V presentaron valores menores que el tratamiento I y II ($\alpha = 0.05$) (Anexo 13).

Cuadro 11: Efecto del nivel proteico de la dieta sobre el comportamiento productivo de juveniles de paco

Tratamiento	Nivel de proteína Cruda (%)	Peso final promedio (g)	Ganancia de peso (g)	Ganancia de peso diario (g)	Consumo de alimento (g)	Conversión alimenticia
I	26	23.99 b	21.38 b	0.51 b	21.34 a	1.00 a
II	28	27.34 b	24.74 b	0.59 b	21.93 a	0.89 b
III	30	31.82 a	29.21 a	0.70 a	23.69 a	0.81 bc
IV	32	34.36 a	31.77 a	0.76 a	24.94 a	0.79 c
V	34	34.57 a	31.96 a	0.76 a	24.11 a	0.75 c

El análisis más simple de los datos de respuesta proteica es solo comparar puntos usando el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias. Este método supone que el requerimiento se define como la concentración más baja del nutriente que da como resultado una respuesta que no es significativamente diferente de la respuesta máxima (o mínima) a algún nivel de nutriente (Pesti et al., 2009).

Por consiguiente, según esté método, el requerimiento proteico para maximizar la ganancia de peso es 30 %, pues la ganancia de peso mostró una tendencia creciente general con un aumento del nivel de proteína desde el 26% hasta el nivel de 30% de proteína y luego no se observaron mejoras estadísticamente significativas. Por otro lado, según el parámetro de conversión alimenticia el requerimiento proteico para maximizar la respuesta es 30%, dado que las conversiones alimenticias de los niveles de 28% de proteína hasta el nivel de 34% de proteína mostraron ser significativamente menores al nivel 26% de proteína. Este requerimiento es similar al determinado por Gutiérrez et al. (1996), quien determinó un requerimiento de 29.8% de proteína bruta, pero los peces fueron mayores y tenían un peso promedio de 180 gramos; lo cual es interesante debido a que los peces de este experimento fueron más pequeños en comparación, pues se conoce que a menor edad el requerimiento proteico de un pez es más alto que un pez de edad mayor.

Un problema de este método es que tales interpretaciones siempre resultan en conclusiones

en que el requerimiento está entre dos concentraciones del nutriente que se alimentaron en el experimento, solo toma en cuenta los niveles energéticos que el investigador ha planteado, descartando los niveles que se puedan encontrar entre los planteados por el investigador, no hay forma de decir exactamente cuál es el requisito. (Zeitun et al., 1976 y Pesti et al., 2009). Shearer (2000) señala que este análisis subestima los requerimientos e incluso es más severo en animales que tienen muy poca investigación como es el caso de este pez.

4.2.2. Requerimiento mediante regresión línea quebrada

El modelo más comúnmente aplicado a los experimentos de dosis-respuesta es la llamada “línea quebrada”. Este modelo supone que, al aumentar la concentración de un nutriente en la dieta, esta tiene un efecto en la respuesta hasta cierto punto (el requerimiento), el cual es la respuesta máxima (o mínima) alcanzada (Pesti et al., 2009). Por encima de este nivel de requerimiento el nutriente extra no será útil, pero tampoco perjudicará la performance.

En la figura 4 se muestra las curvas tomando en cuenta este método, en donde el requerimiento proteico para maximizar la ganancia de peso diaria es 31.45% y para optimizar la conversión alimenticia es 30.79%, sin embargo, existen puntos que generan una mayor ganancia de peso o una menor conversión alimenticia en relación con el requerimiento determinado, pero estos son desestimados por este método.

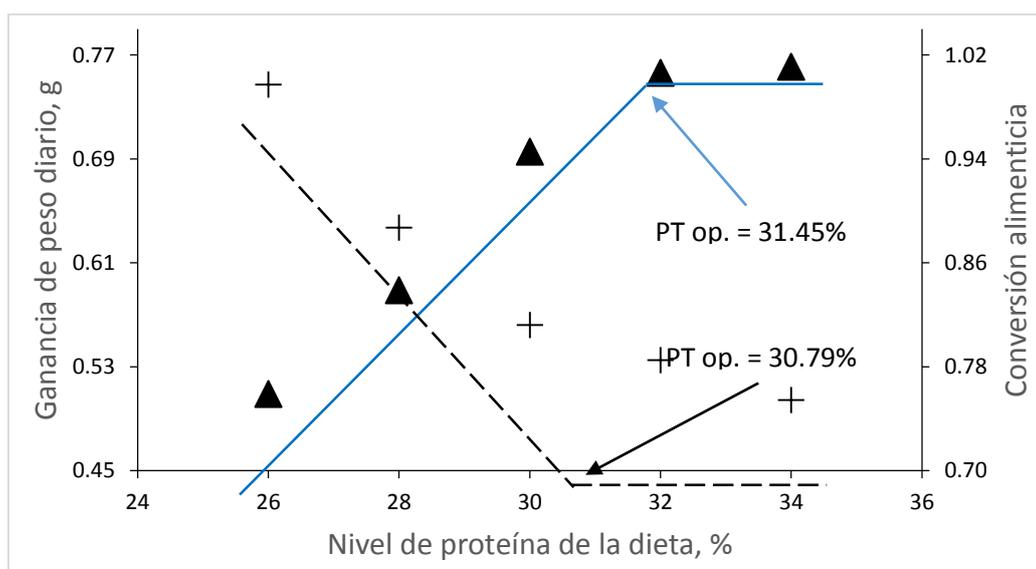


Figura 4: Requerimiento de proteína en base al análisis de regresión línea quebrada

Las ecuaciones de las regresiones para determinar los requerimientos se presentan a continuación:

- Tomando como variable respuesta la ganancia de peso diario

$$y = \langle 0.7587 ; \text{si } x > 31.45 \mid 0.7587 - 0.0466 * (31.45 - x) ; \text{si } x \leq 31.45 \rangle r^2 = 0.961$$

- Tomando como variable respuesta la conversión alimenticia

$$y = \langle 0.7698 ; \text{si } x > 30.79 \mid 0.7698 + 0.0462 * (30.79 - x) ; \text{si } x \leq 30.79 \rangle r^2 = 0.951$$

Donde:

y = ganancia de peso diaria (g) ó conversión alimenticia

x = nivel de proteína del alimento (%)

Bajo este mismo análisis Lafeta et al. (sf) obtuvo como requerimiento proteico para alevines de paco 30.15% utilizando la variable respuesta ganancia de peso y 29.2% utilizando como variable respuesta la conversión alimenticia; resultados similares a lo hallado en este experimento, analizando estos datos diríamos que el requerimiento proteico en un alevín de paco de 2.6g es el mismo que el de un paco de 19 g, lo cual contradice lo postulado por Brown y Robinson (1989), quienes mencionan que determinar un único valor de proteína dietética para todas las fases de la vida del animal es impráctico, pues la temperatura del agua, el tamaño pescado, la calidad de la proteína utilizada y la participación de fuentes energéticas no proteicas influye en las exigencias nutricionales de los peces. Lafeta et al. (sf) utilizó alevines de mayor edad, las dietas utilizadas contenían un nivel energético mayor (3.7 Mcal/kg) a lo usado en este experimento (3.4 Mcal/kg.). Hayashi et al. (2002), mencionaron que la relación energía/proteína y la disponibilidad de nutrientes deben ser adecuadas a las exigencias de la especie para que presenten buenas tasas de crecimiento. La elevada disponibilidad de energía en las raciones y alta relación energía/proteína resultan en la baja ingesta de proteína y de los nutrientes esenciales de la dieta (Chou y Shiau, 1996). Por otro lado, las dietas con deficiencia energética favorecen la síntesis de energía a partir de las proteínas (Pezzato et al., 2002).

El modelo de línea quebrada ha sido desestimado por varios investigadores (Fisher et al., 1973; Curnow, 1973; Robbins et al., 1979 y 2006; Morris, 1989 y 1999; Shearer, 2000), debido a que la respuesta del pez no tiene una respuesta lineal a los niveles energéticos crecientes, y la pendiente de la curva respuesta disminuye conforme el nivel energético se

acerca a su requerimiento, siguiendo la ley de los rendimientos decrecientes, y generalmente este procedimiento sub-estima el requerimiento del animal; por lo que podríamos decir que el nivel de requerimiento proteico es mayor a lo determinado con el modelo de línea quebrada en esta edad del alevín de paco.

4.2.3. Requerimiento mediante regresión polinomial cuadrática

Otra forma simple de determinar el requerimiento de un nutriente es ajustar los datos de la respuesta de las concentraciones del nutriente a un modelo polinomial, generalmente cuadrática. Con los modelos cuadráticos, el requisito se define como la concentración de nutrientes que da como resultado el máximo valor de respuesta previsto, la porción ascendente es curva, aumentando a un ritmo creciente hasta que se alcanza la máxima respuesta, hay un único punto máximo, no una meseta, y los aumentos adicionales en la concentración de nutrientes resultan en niveles de rendimiento reducidos, es decir rendimientos decrecientes no observados en el anterior método (Pesti et al., 2009).

En la figura 5 se muestra las curvas tomando en cuenta este método, en donde el requerimiento proteico para maximizar la ganancia de peso diaria es 34.78% y para optimizar la conversión alimenticia es 33.99%. Las ecuaciones de las regresiones para determinar los requerimientos se presentan a continuación:

- Tomando como variable respuesta la ganancia de peso diario

$$y = -3.4756 + 0.2442 * x - 0.0035 * x^2 \quad r^2 = 0.729$$

- Tomando como variable respuesta la conversión alimenticia

$$y = 5.0125 - 0.2503 * x + 0.0037 * x^2 \quad r^2 = 0.959$$

Donde:

y = ganancia de peso diaria (g) ó conversión alimenticia

x = nivel de proteína del alimento (%)

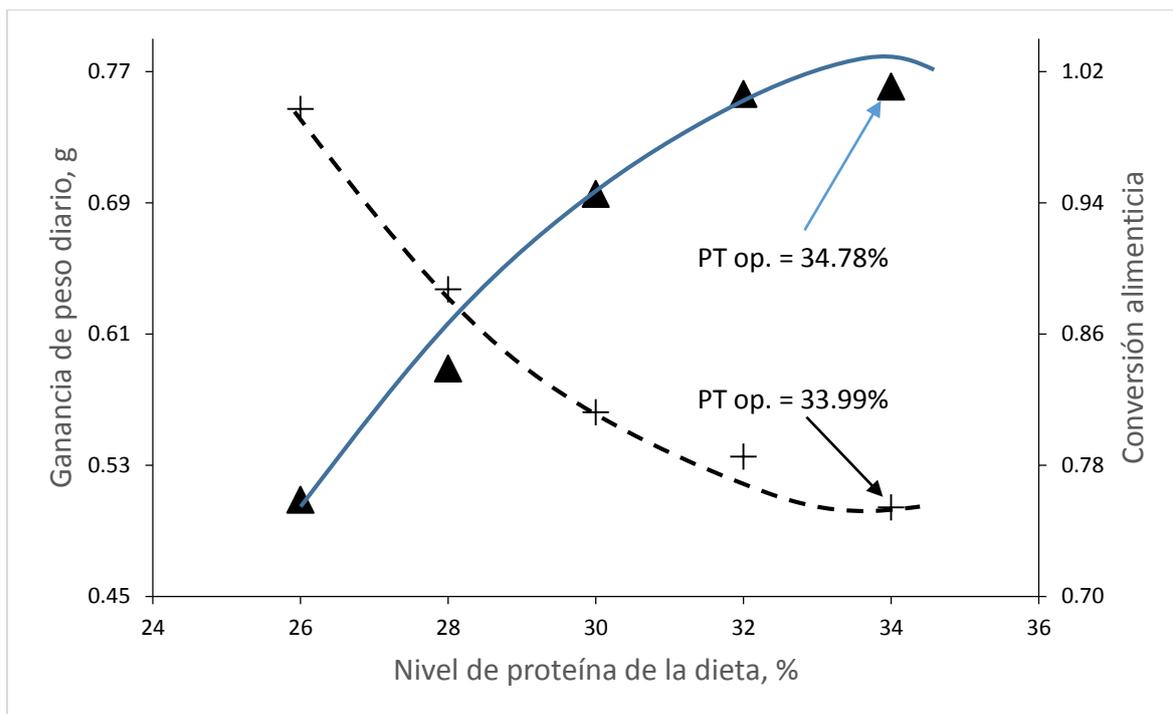


Figura 5: Requerimiento de proteína en base al análisis de regresión polinomial cuadrática

El análisis de regresión polinomial cuadrática muestra que los valores de la variable ganancia de peso aumentan conforme se incrementa el nivel proteico de la dieta, además también muestra que los valores de la variable conversión alimenticia se reducen en cuanto aumenta el nivel proteico. Sin embargo, en la figura 5 no se aprecia la curva descendente o ascendente para las variables ganancia de peso y conversión alimenticia respectivamente; para efectuar un correcto análisis de regresión polinomial cuadrático es necesario tener las dos zonas de la curva respuesta (ascendente y descendente). Además, al derivar las ecuaciones de regresión de las curvas, solo en el caso de la variable de conversión alimenticia los valores de requerimiento óptimo que se obtiene está dentro los 5 niveles de proteína evaluados, mientras que con la variable ganancia de peso diaria el requerimiento optimo es ligeramente superior al nivel de proteína más alto evaluado. Por lo que al analizar estas respuestas se deduce que los niveles usados en el presente experimento fueron bajos con respecto al requerimiento del alevín de paco en esta edad (2 meses). Para la presente investigación la información precedente fue limitante, debido a que no existe investigación acerca del requerimiento proteico en la edad del pez en investigación. Sin embargo, existen otros estudios de determinación de requerimientos en alevines de paco utilizando este método pero en estadios de mayor edad, por ejemplo, Vásquez-Torres et al. (2011), determino en alevines

de paco, con un peso inicial de 15 g. mediante la respuesta ganancia de peso, un requerimiento de 31.6% de proteína para un crecimiento óptimo con un $r^2=0.694$. Mientras que Klein et al. (2014), determino en alevines de paco (*Piaractus mesopotamicus*) con un peso inicial de 150 g. mediante la respuesta ganancia de peso diaria, un requerimiento de 25.9% de proteína para un crecimiento óptimo con un $r^2=0.763$; por lo que se tomó estas investigaciones como referencias.

4.2.4. Comparación de los diferentes análisis

Las estimaciones de los requerimientos de nutrientes cuantitativos están influenciadas no solo por los criterios utilizados, sino por los métodos estadísticos elegidos para evaluar la respuesta del criterio a las diferentes concentraciones de nutrientes en la dieta. (Zeitoun et al., 1976). La metodología del análisis de este tipo de investigaciones es de considerable importancia debido al crecimiento sustancial del cultivo de peces (Bardach et al., 1972 y Huet, 1973). El aumento de peso es un parámetro común utilizado en la evaluación de diferentes niveles dietéticos de un nutriente esencial y en la estimación de los requerimientos cuantitativos de ese nutriente para el pez, sin embargo el parámetro conversión alimenticia aunque no es muy utilizado también es muy importante ya que se toma en cuenta el consumo del alimento.

Cuadro 12: Requerimientos de proteína obtenidos mediante diferentes métodos.

	Método de Análisis		
	Prueba de rango múltiple Tukey	Modelo línea quebrada	Modelo polinomial cuadrático
Requerimiento de proteína para ganancia de peso diaria (%)	30	31.45 ^a	34.78 ^c
Requerimiento de proteína para conversión alimenticia (%)	28	30.79 ^b	33.99 ^d

Donde: a: $r^2=0.911$; b: $r^2=0.887$; c: $r^2=0.724$; d: $r^2=0.898$

En el Cuadro 12 se presenta un comparativo de requerimientos de proteína hallados mediante los diferentes métodos analizados, observando así, que los requerimientos obtenidos mediante la regresión polinomial cuadrático, es mayor a lo obtenido mediante la línea quebrada y análisis de varianza, lo cual está de acuerdo con Pesti et al. (2009), quien menciona que el análisis de línea quebrada subestima los requerimientos y entrega requerimientos menores a los necesarios.

V. CONCLUSIONES

Según la metodología usada en la presente investigación y en función a los resultados obtenidos, se concluye que, el coeficiente de digestibilidad aparente obtenido para la harina de pescado en juveniles de paco fue de 67.35% para la materia seca, 82.43% para la proteína cruda, 89.81% para el extracto etéreo y 80.46% para energía bruta.

1. La energía digestible (ED) de la harina de pescado en paco fue de 3720 Kcal/Kg en base seca.
2. El coeficiente de digestibilidad aparente obtenido para la torta de soya en juveniles de paco fue de 69.88% para la materia seca, 80.18% para la proteína cruda, 75.57% para el extracto etéreo y 69.06% para energía bruta.
3. La energía digestible (ED) de la torta de soya en paco fue de 3200 Kcal/Kg en base seca.
4. El coeficiente de digestibilidad aparente obtenido para la harina de soya integral extruida en juveniles de paco fue 67.41 % para la materia seca, 83.85% para la proteína cruda, 83.58% para el extracto etéreo y 66.11% para energía bruta.
5. La energía digestible (ED) de la harina de soya integral extruida en paco fue de 3690 Kcal/Kg en base seca.
6. El requerimiento de proteína obtenido usando como variable respuesta la ganancia de peso y conversión alimenticia fue de 34.78 y 33.99% respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

A partir del presente trabajo de investigación se recomienda lo siguiente:

1. Se recomienda utilizar el valor 3720 Kcal ED/kg en harina de pescado para la formulación de alimentos balanceados para juveniles de paco.
2. Se recomienda usar el valor 3200 Kcal ED/kg en torta de soya para la formulación de alimentos balanceados para juveniles de paco.
3. Se recomienda utilizar el valor 3690Kcal ED/kg en harina de soya integral extruida para la formulación de alimentos balanceados para juveniles de paco.
4. Se recomienda utilizar como requerimiento de proteína en alevines de paco en esta edad del pez, el valor de 33.99%.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMORAD, E.G; SQUASSONI, G.H. Y CARNEIRO, D.J. 2008. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition.*; 14: 374-380.

ABIMORAD, E.G. Y CARNEIRO, D.J. 2004. Métodos de Coleta de Fezes e Determinação dos Coeficientes de Digestibilidade da Fração Protéica e da Energia de Alimentos para o Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *R. Bras. Zootec.* 33(5): 1101-1109.

ADEPARUSI, E.O. Y KOMOLAFE, A. 2006. Effect of Faecal Collection Methods on Nutrient Digestibility in *Oreochromis niloticus* fed Soya Bean Diets. *Journal of Food Technology.* 4(1): 4–9.

AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S. 2012. Estimating amino acid requirements through dose-response experiments in pigs and poultry.

ALIAGA, P.C. 2004. Variabilidad genética de *Colosoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* en la región de Alto Madera (Amazonía Boliviana) para el análisis del Polimorfismo de la longitud de secuencias (Epic-Pcr). La Paz (Bolivia), 2004, 103 p. Trabajo de grado (Licenciada en Biología). Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Puras y Naturales. Instituto de Biología Molecular y Biotecnología.

ALLEN, G.L; PARKINSON, S; BOOTH, B.A; STONE, A.J; ROWLAND, S.J; FRANCES, J. AND WARNER-SMITH R. 2000. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture* 186:293-310.

ARIAS, J.A. Y VÁSQUEZ, W. 1998. Ampliación del Conocimiento Biológico de *Colossoma* sp. (Characidae) en ambientes naturales de la cuenca del Río Meta Colombia.

Villavicencio. Universidad de los Llanos. Colombia

ARROYO, W.R. 2011. Determinación de la energía metabolizable de tres harinas especiales de pescado en pollos de carne por el método de colección total y fibra cruda. Universidad Nacional Agraria La Molina . Lima, Peru. 105 p.

AUSTRENG, E; STOREBAKKEN, T; THOMASSEN, MS; REFSTIE, S. Y THOMASSEN, Y. 2000. Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids. *Aquaculture* 188: 65–78.

AUSTRENG, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 1978; 13: 266-272.

BARBOZA, C.A. 2016. Determinación de la digestibilidad de nutrientes y la energía digestible de la torta de soya (*Glycine max*) en juveniles de Gamitana (*Colossoma macropomum*). Facultad de Zootecnia. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima Peru. 88p

BARDACH, J.E; RYTHER, J.H. Y MCLARNEY W.O. 1972. *Aquaculture: the farming and husbandry of freshwater and marine organisms.* Wiley-Inter-science, New York, N.Y. 868p .

BATAL, A. Y DALE, N. 2011. *FEEDSTUFFS Ingredient Analysis Table: 2011 Edition.* Universidad of Georgia in Athens.

BOYD, C. 1996. Manejo de suelos y de la calidad de agua en la Acuicultura de piscinas. Asociación Americana de Soya (ASA). Caracas, Venezuela. 62p

BROWN, P.B. Y ROBINSON, E.H. 1989. Comparison of practical catfish feeds containin 26 or 30% protein. *Progressive Fish-Culturist*, v.51, p.149-151.

BUREAU, D.P. Y ENCARNACAO, P.M. 2006. Adequately Defining the Amino Acid Requirements of Fish: The Case Example of Lysine. Fish Nutrition Research Laboratory.

Department of Animal and Poultry Science. University of Guelph, Guelph, Ontario.

CANALES, A. (sf). Determinación de la digestibilidad y energía digestible de la torta de sachá inchi (*Plukenetia volúbilis* Linneo) extruida en gamitana (*Colossoma macropomum*). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

CAMACHO, R. (sf). Digestibilidad de la torta de sachá inchi (*Plukenetia volúbilis* Linneo) y su evaluación productiva en reemplazo de la torta de soya para gamitana (*Colossoma macropomun*). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

CAMPOS, J. 1991. Proyecto de instalación de una planta de aceite vegetal. Tesis Ing. Alim. UJFSC. Huacho, PE.

CALDERON, R.C. 2010. Evaluación de la digestibilidad y desempeño en salmón del atlántico salmo salar (LINNAEUS, 1758), utilizando dietas con diferentes niveles de proteína. Tesis para optar al título de ingeniero en acuicultura. Universidad Austral de Chile.

CARNEIRO, D.J. 1983. Níveis de proteína e energia na alimentacao do pacú *Colossoma mitrei*, Berg 1985. Disertacao de Mestrado. Jaboticabal, FCAV-UNESP, 56 pp.

CAROLSFELD, J; HARVEY B; ROSS C. Y BAER, A. 2003. Migratory Fishes of South America. Washington DC: The International Bank for Reconstruction and Development.

CHIRINOS, O; ADACHI, L; CALDERÓN, F; DÍAZ, R; LARREA, L; MUCHA, G. Y ROQUE, L. 2009. Exportación del Sachá Inchi al mercado del sachá inchi. Ediciones ESAN

CHO, C. Y SLINGER, S.J. 1979. Apparent digestibility measurements in feedstuffs for rainbow trout. p. 239-247

CHO, C.Y; SLINGER, S.J. Y BAYLEY H. S. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes" energy intake, expenditure and productivity. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 73B, No. 1, pp. 25 to 41.

CHOU, B.S. Y SHIAU, S.Y. 1996. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. Aquaculture, v.143, n.2, p.185-195.

CHOUBERT, G; DE LA NOUE, J. Y LUQUET, P. 1979. Un nouveau collecteur automatique quantitatif de feces de poissons. Bull. Fr. Piscic. 288, 68-72.

CHOUBERT, G. 1999. La digestibilité des nutriments chez les poissons aspects de méthodologie. Cybium 23(1) suppl.: 113-125

CLAVIJO, L.C. 2011. Desarrollo de Metodología para la determinación de la digestibilidad de materias primas no convencionales en Cachama Blanca *Piaractus Brachypomus*. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Coordinación General de posgrados.

COSTA, M.G. 2015. Evaluación de la gestión de la calidad y propuesta de mejora para la línea de harina de pescado de la empresa corporación Nutrimar S.A.C. Universidad Nacional Agraria la Molina. Gestión de la Calidad total y productividad. Lima, Perú.

COWEY, C.B. 1994. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. Aquaculture. 124, 1-11.

CRUZ-SUAREZ, L.E; TAPIA, M; VILLAREAL, D; BELTRAN, J; NIETO, MG; LEMME, A. Y RICQUE, D. 2009. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. Aquaculture. 292: 87-94.

CURNOW, R.N. 1973. A smooth population response curve based on an abrupt threshold and plateau model for individuals. Biometrics. 29:1-10.

DA SILVA, A. B; CARNEIRO, A; MELO, F. R. Y LOVSHIN, L.L. 1978. Mono e policultivo intensivo do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) e da pirapitinga, *Colossoma bidens* (Spix) com o híbrido macho das tilapias *Sarotherodon niloticus* fêmea e *Sarotherodon hornorum* macho. México D.F.: II Simposio de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura.

DAWKINS, H.C. 1983. Multiple Comparisons Misused: Why so Frequently in Response-Curve Studies? Biometrics. 39(3):789-790.

DÍAZ, F.J. Y LÓPEZ, R.A. 1995. El cultivo de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) y de la cachama negra (*Colossoma macropomum*): Fundamentos de Acuicultura Continental. Instituto Nacional del Pesca y Acuicultura (INPA). Rodríguez, Polo y Salazar Eds. Santafé de Bogotá. p. 207 – 221.

EYZAGUIRRE, H. F. Y CORDOVA, R. V. 1973. Aspectos básicos de la producción piscícola en carácidos tropicales. Simp. Int. sobre Fauna Silvestre e Pesca Fluvial y Lacustre Amazónica. Manaus (Brasil): IBDF, SUDEPE. P. A1-A11.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2001. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.

FARRO, H. 1996. Industria Pesquera. edit. Industrial Grafica. Lima. 297 p.

FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). 2015. Valor nutricional de la Harina de soja 47 % PB (en línea). España. Consultado 23 enero. 2018. Disponible en : www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/harina-de-soja-47-pb

FERNÁNDES, J.B; LOCHMANN, R. Y ALCANTARA, F. 2004. Apparent Digestible Energy and Nutrient Digestibility Coefficients. Universidade Estadual Paulista, Centro de Acuicultura da UNESP. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 35, N° 2. Brasil.

FERNÁNDEZ, F; MIGUEL, AG; CUMPLIDO, LR; GUINEA, J. Y ROS, E. 1996. Comparisons of faecal collection methods for digestibility determinations in gilthead sea bream. Journal of Fish Biology. 49: 735–738.

FISHER, C; MORRIS T.R. Y R.G. JENNINGS. 1973. A model for the description and prediction of the response of laying hens to amino acid intake. Br. J. Poult. Sci. 14:469- 484.

FOSTER, I.P; DOMINY, W. Y TACON, A.G. 2002. The use of concentrates and other

soy products in shrimp feeds. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México. pp. 527-540.

FURUKAWA, A. Y TSUKAHARA, H. 1966. On the acid digestion method for the determination of Chromic Oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 32(6): 502–506

GAHL, M.J., FINKE, M.D, CRENSHAW, T.D., BENAVENTA, N.J., 1991. Use of four-parameter logistic equation to evaluate the response of growing rats to ten levels of each indispensable amino acid. *J. Nutr.* 121, 1720-1729.

GARZÓN, V. 2006. La soya como fuente de proteína en la alimentación animal. In: R.A. Valencia, C.A. Jaramillo y N. Cubillos Quintero (ed). *Soya (Glycine max (L.) Merrill)*. Alternativa para los sistemas de producción de la Orinoquía colombiana. Villavicencio, Meta, Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. p 45-56.

GAYLORD, T.G; BARROWS, F.T; RAWLES, S.D; LIU, K; BREGITZER, P; HANG, A; OBERT, D.E. Y MORRIS, C. 2009. Apparent digestibility of nutrients and energy in extruded diets from cultivars of barley and wheat selected for nutritional quality in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*. 15(3): 306–312.

GLENCROSS, B.D; BOOTH, M. Y ALLAN, G.L. 2007. A feed is only as good as its ingredients a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. ***Aquaculture Nutrition***, v.13, p.17- 34.

GODDARD, J.S. Y MCLEAN, E. 2001. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture* 194, 93-98

GOULDING, M. 1981. *The fishes and the forest: Explorations in Amazonian natural history*. University of California Press. 281 p.

GUERRA, H; ALCANTARA, F; SÁNCHEZ, H. Y AVALOS S. 1992. Hibridación de Paco, *Piaractus brachyomus* (Cuvier, 1818) por gamitana, *Colossoma macropomum* (Cuvier,1818) en Iquitos – Peru. Instituto de Investigación de la Amazonia ILAP. Folia Amazonica Vol. N° 4(1). Iquitos, Perú.

GUILLAUME, J; KAUSHIK, S; BERGOT, P. Y METAILLER, R. 2004. Nutrición y alimentación de peces crustáceos edición española ediciones mundi-prensa. Madrid – ES. Pag 74-77

GUTIÉRREZ–ESPINOSA, M.C. Y VÁSQUEZ–TORRES, W. 2012. Digestibilidad aparente de la harina de vísceras de pollo y harina de pescado en juveniles de *Piaractus brachyomus* Cuvier 1818. Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos, Profesores Instituto de Acuicultura IALL. Universidad de los Llanos, Villavicencio Meta

GUTIÉRREZ-ESPINOSA, M.C; YOSSA-PERDOMO, M.I. Y VÁSQUEZ-TORRES W. 2011. Digestibilidad aparente de materia seca, proteína y energía de harina de vísceras de pollo, quinua y harina de pescado en tilapia nilótica, *Oreochromis niloticus*. Instituto de Acuicultura Universidad de Los Llanos, Colombia.

GUTIÉRREZ, F.W; QUISPE, M; VALENZUELA, I; CONTRERAS, G. Y ZALDÍVAR, J. 2010. Utilización de la proteína dietaria por alevinos de la gamitana, *Colossoma macropomum*, alimentados con dietas isocalóricas. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Perú. Rev. peru. biol. 17(2): 219 – 223pp.

GUTIÉRREZ, F.W; ZALDIVAR, J. Y CONTRERAS, G. 2009. Coeficientes de digestibilidad de harina de pescado peruana y maíz amarillo duro para *Colossoma macropomum*. Rev. PE. biol. 15(2): 111- 115.

GUTIÉRREZ–ESPINOSA, M.C. Y VÁSQUEZ–TORRES, W. 2008. Digestibilidad de *Glicine max*, soya, en juveniles de Cachama Blanca *Piaractus brachyomus*, Cuvier 1818. Revista Orinoquía.; 12(2):141-148.

GUTIÉRREZ, W; ZALDÍVAR, J; DEZA, S. Y REBAZA, M. 1996. Determinación de los Requerimientos de Proteína y Energía de Juveniles de Paco, *Piaractus Brachypomus*. Folia Amazonica Vol. 8(2). IIAP 35p.

HARDY, R. 1997. Understanding and using apparent digestibility coefficients in fish nutrition. Aquaculture Magazine May/June 84:89.

HAYASHI, C; BOSCOLO, W.R. Y SOARES, C.M. 2002. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no período de reversão sexual. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.2, p.823-828.

HEPHER, B. 1988. Nutrición de peces comerciales en estanques. 1ra-Ed. Limusa S.A. grupo noriega editores. México

HERNÁNDEZ, A. 1994. Memorias del VIII Congreso Latinoamericano de Acuicultura y V Seminario Nacional de Acuicultura. Acuicultura y Desarrollo Sostenible. Santafé de Bogotá. Colombia. p. 9 – 23.

HUET, M. 1973. Textbook of fish culture. Fishing News Books, Ltd., London, 436 p.

HURWITZ, S; SKLAN D. Y BARTOV I. 1978. New formal approaches to the determination of energy and amino acid requirements of chicks. Poultry Sci. 57:197-205

KLEIN, S; LORENZ, E.K; BUENO, G.W; SIGNOR, A; FEIDEN, A. Y BOSCOLO, W.R. 2014. Levels of crude protein in diets for pacu (*piaractus mesopotamicus*) from 150 to 400g reared in cages. Department of Zootechnics. University of Maringá. Brazil. Arch. Zootec. 63 (244): 599-610.

LAFETA, Y; VERGARA V. Y CAMACHO, R. (sf). Determinación de la Digestibilidad de ingredientes y el requerimiento de proteína y energía digestible en paco (*Piaractus brachypomus*). Universidad Agraria La Molina Laboratorio de Nutricion y alimentación de peces y crustáceos. Acuioriente. Universidad Nacional de Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. La Molina, Peru.

LANDINES, M; RODRÍGUEZ, L. Y RODRÍGUEZ D. 2011. Estrategias de alimentación para cachama y yamú a partir de prácticas de restricción alimenticia.

LAUZANNE, L. Y LOUBENS, G. 1985. Peces del río Mamoré. Orstom-Cordebeni-UTB.

LEE, P. Y LAWRENCE, A. 1997. Digestibility . in crustacean nutrition. Advances in world aquaculture. Vol 6 eds. L.r. D'abramo; D. E. cokin and D.M. akiyama. World aquaculture society. US. 194-260 p.

LÓPEZ, I. 1994. Evaluación de la digestibilidad aparente de la torta de soya *Glycine max* (L) como ingrediente principal para cachama blanca *Piaractus brachypomus*. VIII Congreso Latinoamericano de Acuicultura. V Seminario nacional de Acuicultura. La acuicultura y el desarrollo sostenible. Santa Fe de Bogotá. Colombia. p 357-365.

LOUBENS, G. Y PANFILI, J. 1997. Biologie de *Colossoma macropomum* (teleostei: serrasalmidae) dans le bassin du mamoré (amazonie bolivienne). En: Ichthyological Exploration of Freshwaters. Vol. 8, p. 1–22.

LOVSHIN, L; DA SILVA, A.; FERNANDES, J. A. Y SOBRINHO, A.C. 1974. Preliminary pond culture test of pirapitinga, *Colossoma bidens* (Agassiz) and tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) from the Amazon river basin.

LOVELL, R.T. 1991. Uso de los productos de soya en dietas para especies de acuicultura. Asociación Americana de Soya. ASA/MEXICO No.19. 8 pp.

LUCAS, C.M. 2008. Within flood season variation in fruit consumption and seed dispersal by two characin fishes of the Amazon. *Bitropica*. Florida U.S.A. v.40, p.581 - 589.

MANRÍQUEZ, J.A. 1994. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación: Digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos-su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. (en línea). Consultado el 10 Agosto del 2016. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S08.htm>

MATEOS, G.G; LATORRE, M.A Y LÁZARO, R. (S.F.). Procesamiento del haba de soja. Departamento de Producción Animal, UP Madrid.

MAYNARD, L.A. Y LOOSLI, J.K. 1979. Animal Nutrition, 6th edition, p: 613. McGraw Hill, New York

MERCER, L.P; MAY, H.E. Y DODDS, S.J. 1989. The determination of nutritional requirements in rats: mathematical modeling of sigmoidal, inhibited nutrient-response curves. J. Nutr. 119, 1465-1471.

MESA-GRANDA, M. Y BOTERO-AGUIRRE, M. 2007. La cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), una especie potencial para el mejoramiento genético. Grupo GICAUNAD, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Grupo GRICA. Facultad de ciencias Agrarias. Universidad de Antioquia. Rev. Col. Cienc Pec Vol. 20:1. Medellin, Colombia.

MINISTERIO DE LA PRODUCCION. 2014. Anuario Estadístico Pesquero y Acuicola. Lima, Perú. 196 p.

MONARI, S. 1999. Fullfat soya handbook. American Soybean Association. 44p.

MONTOYA, T.J. 2002. Efecto de dos niveles de proteína y energía digestible en el comportamiento productivo de alevines de tilapia roja (*Oreochromis spp.*). Universidad Agraria la Molina. Facultad de Pesqueria. 75pp.

MORRIS, T.R. 1999. Experimental Design and Analysis in Animal Sciences. CABI Publishing, New York.

MORRIS, T.R. 1989. The interpretation of response data from animal feeding trials. In: D.J.A. Cole and W. Haresign. Recent Developments in Poultry Nutrition, ed. Butterworth, London, pp. 1-11.

MURILLO, R.; GUEVARA, S. Y ORTIZ, A. 2003. Evaluación de dos dietas con proteína de origen vegetal en alimentación de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) en fase de levante, utilizando ingredientes de la región del Ariari. Instituto de Acuicultura de la

Universidad de los Llanos. Colombia.

NEWKIRK, R. 2010. Soybean Feed Industry Guide (en línea), CAN. Consultado el 10 nov 2014. Disponible en: <https://cigi.ca/wp-content/uploads/2011/12/2010-Soybean-Feed-Industry-Guide.pdf>

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 2011. Nutrient Requeriments of fish. (en línea). Consultado 18 agosto 2017. Disponible en: <http://www.nap.edu/catalog/13039/nutrient-requirements-of-fish-and-shrimp>

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington DC., 114pp.

OLDEPESCA. 2010. Estudio sobre los efectos del cambio climático en las especies acuícolas más importantes de la región. Memorias de la XXI Conferencia de Ministros. San Francisco de Campeche , México

OROZCO, J..J. 1990. Estudio de crecimiento y de producción de cachama negra (*Colossoma macropomum*) y la cachama negra (*Colossoma bidens*) a densidades altas en tanques y jaulas flotantes. Informe CERER-U. de Lieje, Bélgica, 42 p.

PERCIVAL, S.B; LEE, P.S. Y CARTER, C.G. 2001. Validation of a technique for determining apparent digestibility in large (up to 5 kg) Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seacages. *Aquaculture*. 201: 315–327.

PESTI, G.M; VEDENOV, D; CASON J.A. Y L. BILLARD. 2009. A comparison of methods to estimate nutritional requirements from experimental data. *Br. Poult. Sci.* 50:16–32.

PEZZATO, L.E; MIRANDA, E.C. Y BARROS, M.M. 2002. et al. Digestibilidad aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1595-1604.

POMAR, C; KYRIAZAKIS, I; EMMANS, G.C. Y KNAP, P.W. 2003. Modeling stochasticity: Dealing with populations rather than individual pigs. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl.): E178-E186.

RAWLES, S.D. 2009. A comparison of two faecal Collection methods for proteína and amino acid digestibility coefficients of menhaden fish meal and two grades of poultry by-product meals for market-size sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture Nutrition.* 16: 81 – 91.

REBAZA, C; VILLAFANA, E; REBAZA, M. Y DEZA, S. 2002. Influencia de tres densidades de siembra en el crecimiento de *Piaractus brachypomus* “Paco” en segunda fase de alevinaje en estanques seminaturales.

ROBBINS, R; SAXTON, A. Y SOUTHERN, L. 2006. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *J. Anim. Sci.* 84(E. Suppl.):E155-E165.

ROBBINS, R; NORTON, H. Y BAKER, H. 1979. Estimation of Nutrient Requirements from Growth Data. *J. Nutr.* 109:1710-1714.

RODEHUTSCORD, M. Y PACK, M., 1999. Estimates of essential amino acid requirements from dose-response studies with rainbow trout and broiler chicken: effect of mathematical model. *Arch. Anim. Nutr.* 52, 223-244.

RODEHUTSCORD, M; BECKER, A; PACK, M. Y PFEFFER, E. 1997. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to supplements of individual essential amino acids in a semipurified diet, including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids. *J. Nutr.* 127, 1166-1175.

RODEHUTSCORD, M; JACOBS, S; PACK, M., PFEFFER, E. 1995a. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 150 g to supplements of DL-methionine in a semipurified diet containing low or high levels of cysteine. *J. Nutr.* 125, 964-969.

ROKEY, G. 1995. Tecnología de la extrusión e implicaciones nutricionales. XI Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España.

RUEDA, S.L. 2016. Energía metabolizables del grano de soya integral determinada en pollos de engorde. Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 91p.

SCHLESER, D. 1997. Piranhas: A Complete Owner's Manual. Hauppauge, NY: Barron's Educational Series, Inc.

SENHORINI J. Y FRANZOSO A. 1994. Influencia da produtividade dos viveiros e a contribuição da ração na larvicultura do “pacu” *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), *Bol Tec. CEPTA.* 7 (único):27-40.

SHEARER, D. 2000. Experimental design, statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. *Aquaculture Nutrition*, 6: 91-102.

SHIAU, S. Y SHY, S. 1998. Dietary chromic oxide inclusion level required to maximize glucose utilization in hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* · *O. aureus*. *Aquaculture*, 161: 357–364.

SMITHERMAN, R.O. 1993. Status and Potencial for the Use of Soy in Aquaculture. 14 de abril, 1993.

SOLAR, I. 2002. Biotecnología aplicada a la acuicultura. *Aquanoticias*. Chile, 10 p.

TIMMONS, M.B; EBELING, J.M; WHEATON, F.W; SUMMERRFELT, S.T. Y VINCI, B.J. 2002. Recirculating aquaculture systems. 2nd ed. New York: Cayuga Aqua Venture. 769p.

VALLS, A. 1993. El proceso de extrusión en cereales y habas de soja. I. Efecto de la extrusión sobre la utilización de nutrientes. IX Curso de Especialización FEDNA. Barcelona.

VANDENBERG, G. y DE LA NOÛE, J. 2001. Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of faeces collection and

thee digestibility markers. *Aquaculture Nutrition* 7:237-245.

VÁSQUEZ-TORRES, W; PEREIRA-FILHO, M. Y ARIAS-CASTELLANOS, J.A. 2011. Exigência ótima de proteína bruta para juvenis de pirapitinga, *Piaractus brachypomus*. Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Instituto de Aquicultura (IALL), Universidad de los Llanos, Km 12, via Puerto López, Vereda Barcelona, Villavicencio, Colombia. *Ciência Rural*, Santa Maria v41, n12, p.2183-2189.

VÁSQUEZ-TORRES, W; YOSSA, M.I. Y GUTIÉRREZ-ESPINOSA, M.C. 2013. Digestibilidad aparente de ingredientes de origen vegetal y animal en la cachama. Universidad de los Llanos, Instituto de Acuicultura (IALL), Km 12 Vía Puerto López, Villavicencio, Meta, Colombia. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.48, n.8, p.920- 927.

ZEITOUN, I. H; ULLREY D.E; MAGEE W.T; GILL J.L. Y BERGEN W.G. 1976. Quantifying nutrient requirements of fish. *J. Fish. Res. Board Can.* 33: 167-172

ZEITOUN, I; HALVER, J; ULLREY, D; TACK, P. Y MAGEE, W. 1974. Influence of salinity on protein requirements of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *J. Fish. Res. Board Can.* 31: I 145-1 148

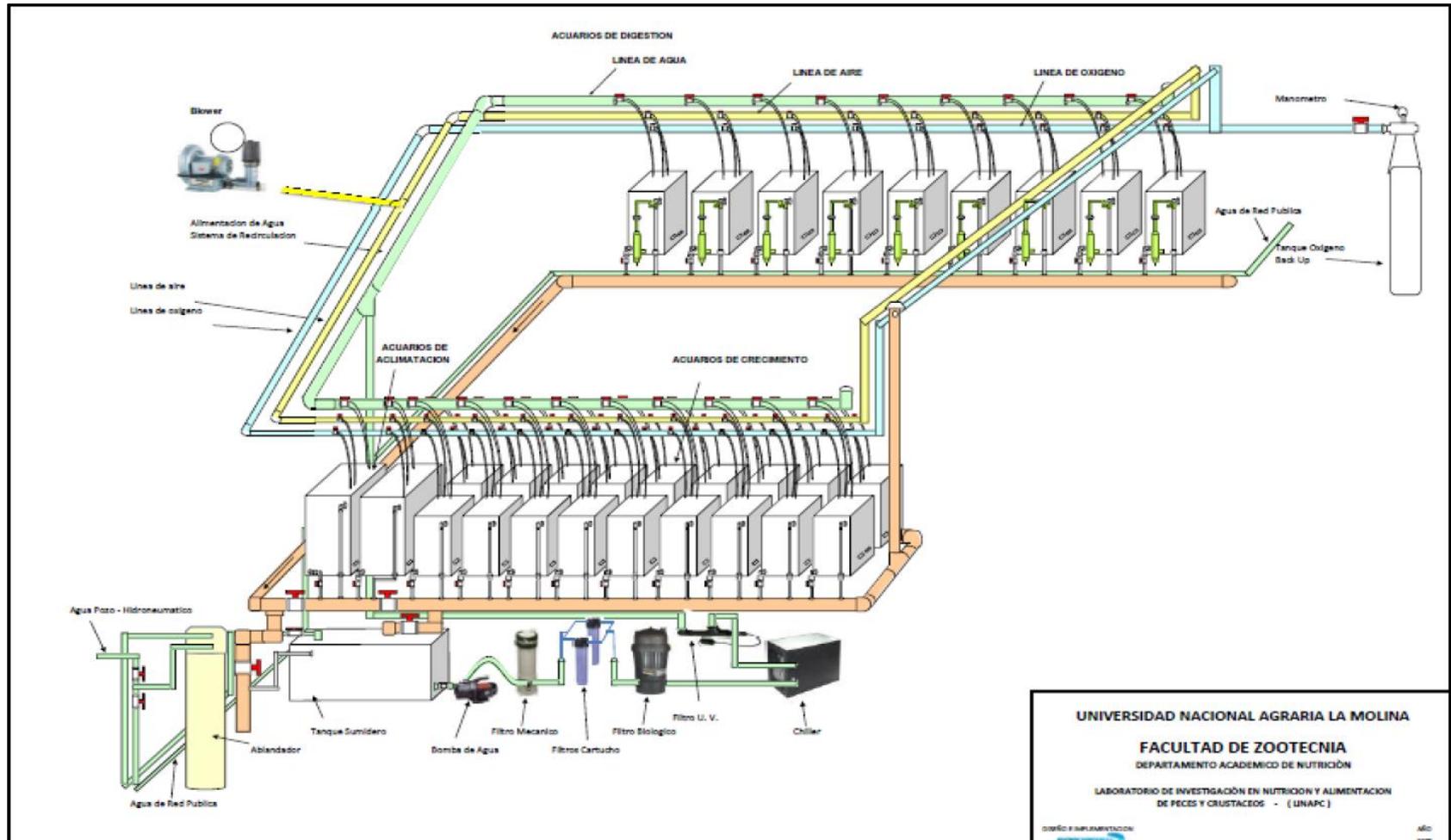
ZEITOUN, I; HALVER, J; ULLREY, D. Y TACK, P. 1973. Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. *J. Fish. Res. Board Can.* 30: 1867-1873.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Instalaciones y equipos del LINAPC

EQUIPO	UNIDAD	FUNCIÓN
Ablandador de agua	1m ³	Al poseer el agua de La Molina 1500 ppm (concentración de iones de Ca ⁺⁺ y Mg ⁺⁺), el ablandador cumple la función de disminuir la dureza hasta 16 ppm.
Tanque sumidero	Capacidad 360 Lt	Recepciona directamente el agua del ablandador. Consta de un desagüe por rebose y una salida hacia la bomba de agua.
Bomba de agua	1 HP de potencia	Permite el movimiento del agua desde el tanque sumidero a través de todos los filtros hacia todos los acuarios.
Filtro mecánico (Reemy)	1 unidad	Tiene la capacidad para retener partículas de hasta un mínimo de 20µm.
Filtros Housing	2 unidades	Apoyan al filtro mecánico con la retención de partículas de 20µm
Enfriador/calentador de agua	2 HP de potencia	Enfriar o calienta el agua entre un rango de 13 – 32 °C.
Esterelizador U.V.	25 watts	Esteriliza el agua disminuyendo de esta forma la presencia de algas, bacterias y virus no deseada en los acuarios.
Filtros Cuno	4 unidades	Compuesto por dos pares de filtros (5µm y 1µm), permite que el agua llegue con mayor pureza a los acuarios.
Bomba de aire (blower)	1/3 HP de potencia	Toma aire del ambiente y lo traslada a través de las líneas de aire hacia los acuarios, donde se encuentran las piedras difusoras de aire.
Acuarios para pruebas de digestibilidad	9 unidades	Cada acuario de fibra de vidrio tiene capacidad de 55 litros, de color blanco, liso por dentro y fuera, con frontis de vidrio de 6mm y dimensiones de 0.45ancho x 0.45 profundidad x0.50 altura (cm) y pendiente de 13°.
Acuarios para pruebas de crecimiento	18 unidades	Cada acuario de fibra de vidrio tiene capacidad de de 55 a 75L de capacidad, liso por dentro y por fuera, y frontis de vidrio, dimensiones de 0.47 ancho x 0.47 profundidad x0.50 altura (cm).
Acuarios de adaptación	2 unidades	Cada acuario de 120 L de capacidad, liso por dentro y por fuera, y frontis de vidrio.

ANEXO 2: Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos (LINAPC)



ANEXO 3: Parámetros de calidad de agua durante la prueba de digestibilidad

Parámetros	Semanas												Promedio	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Temperatura de Acuarios (°C)	8.00 am	26.50	26.90	26.30	26.60	26.40	26.80	26.60	26.60	26.80	26.90	27.10	27.00	26.71
	12.00 m	27.80	27.50	27.50	28.00	27.70	27.60	27.50	27.70	27.70	27.90	27.90	27.60	27.70
	4.00 pm	27.90	27.30	27.40	28.00	27.90	27.70	27.50	27.90	27.60	27.70	27.90	27.50	27.69
Temperatura Ambiental (°C)	8.00 am	22.80	22.90	23.00	23.20	23.50	24.00	23.90	24.10	24.20	24.00	24.30	24.50	23.70
	12.00 m	23.40	23.50	23.50	24.10	24.00	25.00	24.80	25.00	25.10	24.90	25.50	25.60	24.53
	4.00 pm	23.40	23.30	23.40	24.00	24.10	25.10	25.00	25.10	25.10	25.00	25.80	25.60	24.58
Oxígeno disuelto (mg/L)	8.50	8.00	7.50	7.90	8.00	8.30	8.00	8.60	8.50	8.20	8.40	8.00	8.16	
Dureza (ppm)	260.00	300.00	120.00	100.00	140.00	120.00	80.00	140.00	160.00	100.00	80.00	160.00	146.67	
pH	7.50	7.20	7.60	7.10	7.40	7.50	7.40	7.40	7.30	7.50	7.40	7.50	7.40	
N. Amoniacal (mg/L)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	
Nitrito (mg/L)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	

ANEXO 5: Peso y talla inicial de los peces para la prueba de digestibilidad

	Dieta referencia						Dieta con harina de pescado						Dieta con torta de soya						Dieta con harina de soya integral extruida					
	R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3	
	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)	Peso (g)	Talla (cm)
1	216.0	19.9	191.7	19.9	257.7	21.5	220.4	20.0	196.5	20.5	216.3	20.2	190.7	19.9	258.7	21.5	218.3	20.8	243.1	21.4	216.8	19.9	179.1	19.0
2	211.1	20.0	195.0	20.0	285.7	22.0	218.3	20.5	194.1	20.0	264.7	22.0	192.0	20.0	282.7	22.0	211.0	19.5	239.6	21.0	214.1	20.0	188.4	19.0
3	246.0	21.3	190.6	19.5	303.2	22.6	235.9	21.0	227.5	21.0	226.5	20.4	189.6	19.5	301.9	22.6	217.7	20.5	204.5	20.0	246.6	21.3	204.8	19.3
4	243.4	20.9	181.8	20.0	247.5	21.5	258.6	21.5	199.4	20.0	244.7	21.0	185.6	20.0	245.2	21.5	200.9	20.0	265.2	21.8	240.4	20.9	194.6	19.4
Promedio	229.1	20.5	189.8	19.9	273.5	21.9	233.3	20.8	204.4	20.4	238.1	20.9	189.5	19.9	272.1	21.9	212.0	20.2	238.1	21.1	229.5	20.5	191.7	19.2

ANEXO 6: Análisis proximal de los ingredientes evaluados

	Base fresca			Base seca		
	Harina de pescado	Torta de soya	Harina de soya integral extruida	Harina de pescado	Torta de soya	Harina de soya integral extruida
Materia Seca, %	92.00	93.10	89.30	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda, %	68.40	46.90	34.50	74.35	50.38	38.63
Grasa, %	7.60	3.30	19.70	8.26	3.54	22.06
Fibra cruda, %	0.20	4.10	8.10	0.22	4.40	9.07
Ceniza, %	15.80	7.30	5.30	17.17	7.84	5.94
ELN1, %	0.00	31.50	29.80	0.00	33.83	33.37
Energía Bruta, Mcal/kg.	4.25	4.31	4.99	4.62	4.63	5.59

ANEXO 7: Análisis proximal de las Dietas de la prueba de digestibilidad

	Base fresca				Base seca			
	D1 ^a	D2 ^b	D3 ^c	D4 ^d	D1 ^a	D2 ^b	D3 ^c	D4 ^d
Materia Seca, %	93.50	92.30	92.30	91.80	100.00	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda, %	31.30	42.40	36.20	31.60	33.48	45.94	39.22	34.42
Grasa, %	10.50	9.00	8.90	12.40	11.23	9.75	9.64	13.51
Fibra cruda, %	2.40	1.70	2.80	2.80	2.57	1.84	3.03	3.05
Ceniza, %	6.40	9.70	7.40	6.40	6.84	10.51	8.02	6.97
ELN1, %	42.90	29.50	37.00	38.60	45.88	31.96	40.09	42.05
Energía Bruta, Mcal/kg.	4.45	4.59	4.28	4.22	4.76	4.97	4.63	4.59

(a) Dieta de referencia; (b) Dieta prueba con Harina de Pescado; (c) Dieta prueba con Torta de soya; (d) Dieta prueba con Harina de soya integral extruida

ANEXO 8: Análisis proximal de las Heces

Análisis químico proximal de las heces obtenidas de la dieta referencial

Contenido nutricional	D1					
	Base fresca			Base seca		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Materia Seca, %	89.62	91.29	90.73	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda, %	12.17	11.59	12.50	13.58	12.70	13.78
Grasa, %	1.75	1.52	1.64	1.95	1.67	1.81
Fibra cruda, %	14.88	15.01	14.76	16.60	16.44	16.27
Ceniza, %	9.03	8.75	8.95	10.08	9.58	9.86
ELN1, %	51.79	54.42	52.88	57.79	59.61	58.28
Energía Bruta, Mcal/kg.	3.86	3.92	3.93	4.31	4.30	4.33

Análisis químico proximal de las heces obtenidas de la dieta prueba con harina de pescado

Contenido nutricional	D2					
	Base fresca			Base seca		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Materia Seca, %	91.83	91.67	91.76	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda, %	19.04	18.55	17.97	20.73	20.24	19.58
Grasa, %	1.80	1.82	1.74	1.96	1.99	1.90
Fibra cruda, %	11.20	11.74	11.45	12.20	12.81	12.48
Ceniza, %	16.24	17.42	16.81	17.68	19.00	18.32
ELN1, %	43.55	42.14	43.79	47.42	45.97	47.72
Energía Bruta, Mcal/kg.	3.87	3.69	3.87	4.21	4.03	4.22

Análisis químico proximal de las heces obtenidas de la dieta prueba con torta de soya

Contenido nutricional	D3					
	Base fresca			Base seca		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Materia Seca, %	92.16	91.72	91.79	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda, %	16.36	17.22	16.62	17.75	18.77	18.11
Grasa, %	2.76	2.69	2.97	2.99	2.93	3.24
Fibra cruda, %	13.83	12.91	13.42	15.01	14.08	14.62
Ceniza, %	9.04	11.67	9.90	9.81	12.72	10.79
ELN1, %	50.17	47.23	48.88	54.44	51.49	53.25
Energía Bruta, Mcal/kg.	4.02	3.88	4.04	4.36	4.23	4.40

Análisis químico proximal de las heces obtenidas de la dieta prueba con harina de soya integral extruida

Contenido nutricional	D4					
	Base fresca			Base seca		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Materia Seca, %	92.60	91.35	91.97	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda, %	15.22	12.42	13.09	16.44	13.60	14.23
Grasa, %	3.12	3.02	3.28	3.37	3.31	3.57
Fibra cruda, %	20.84	20.62	20.35	22.51	22.57	22.13
Ceniza, %	7.76	6.71	7.07	8.38	7.35	7.69
ELN1, %	45.66	48.58	48.18	49.31	53.18	52.39
Energía Bruta, Mcal/kg.	3.97	3.86	4.08	4.29	4.23	4.44

ANEXO 9: Determinación de la concentración de Oxido de cromo en las dietas y Heces

Muestra	Repeticiones	Oxido de cromo	
		Base Fresca	Base seca
D1 ^a	-	0.51	0.55
D2 ^b	-	0.49	0.53
D3 ^c	-	0.43	0.47
D4 ^d	-	0.40	0.44
Heces de la dieta D1	R1	1.09	1.22
	R2	1.16	1.27
	R3	1.10	1.21
	Promedio	1.12	1.23
Heces de la dieta D2	R1	1.20	1.31
	R2	1.17	1.28
	R3	1.19	1.30
	Promedio	1.19	1.29
Heces de la dieta D3	R1	1.05	1.14
	R2	1.06	1.16
	R3	1.08	1.18
	Promedio	1.06	1.16
Heces de la dieta D4	R1	0.95	1.03
	R2	0.98	1.07
	R3	0.99	1.08
	Promedio	0.97	1.06

(a) Dieta de referencia; (b) Dieta prueba con Harina de Pescado; (c) Dieta prueba con Torta de soya; (d) Dieta prueba con Harina de soya integral extruida

ANEXO 10: Coeficientes de digestibilidad de los ingredientes evaluados

		Materia Seca, %	Proteína Total, %	Grasa, %	ELN1, %	Energía Bruta, %
Harina de pescado	R1	68.68	81.39	92.45	0.00	79.87
	R2	65.71	81.56	89.97	0.00	82.55
	R3	67.64	84.36	87.02	0.00	78.96
	Promedio, %	67.35	82.43	89.81	0.00	80.46
	Desviación estándar	1.51	1.67	2.72	0.00	1.87
	CV, %	2.24	2.02	3.03	0.00	2.32
Torta de soya	R1	67.78	80.81	75.73	47.20	66.27
	R2	69.72	78.17	77.21	59.75	71.78
	R3	72.12	81.57	73.77	57.02	69.12
	Promedio, %	69.88	80.18	75.57	54.65	69.06
	Desviación estándar	2.17	1.79	1.72	6.60	2.75
	CV, %	3.11	2.23	2.28	12.08	3.99
Harina de soya integral extruida	R1	63.64	75.42	83.08	67.73	63.48
	R2	69.00	89.19	85.05	61.52	70.21
	R3	69.60	86.93	82.59	64.83	64.63
	Promedio, %	67.41	83.85	83.58	64.69	66.11
	Desviación estándar	3.28	7.38	1.30	3.11	3.60
	CV, %	4.87	8.80	1.56	4.81	5.44

ANEXO 11: Nutrientes digestibles y energía digestible de los ingredientes evaluados

		Materia Seca, g/100g	Proteína Total, g/100g	Grasa, g/100g	ELN1, g/100g	ED, Mcal/kg.
Harina de pescado	R1	68.68	60.51	7.64	0.00	3.69
	R2	65.71	60.64	7.43	0.00	3.81
	R3	67.64	62.72	7.19	0.00	3.65
	Promedio, %	67.35	61.29	7.42	0.00	3.72
	Desviación estándar	1.51	1.24	0.22	0.00	0.09
	CV, %	2.24	2.02	3.03	0.00	2.32
	Torta de soya	R1	67.78	40.71	2.68	15.97
R2		69.72	39.38	2.74	20.22	3.32
R3		72.12	41.09	2.61	19.29	3.20
Promedio, %		69.88	40.39	2.68	18.49	3.20
Desviación estándar		2.17	0.90	0.06	2.23	0.13
CV, %		3.11	2.23	2.28	12.08	3.99
Harina de soya integral extruida		R1	63.64	29.14	18.33	22.60
	R2	69.00	34.46	18.76	20.53	3.92
	R3	69.60	33.58	18.22	21.63	3.61
	Promedio, %	67.41	32.39	18.44	21.59	3.69
	Desviación estándar	3.28	2.85	0.29	1.04	0.20
	CV, %	4.87	8.80	1.56	4.81	5.44

ANEXO 12: Parámetros productivos de los peces de la prueba de requerimiento

Parámetro	Nivel de Proteína Cruda														
	26%			28%			30%			32%			34%		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Biomasa inicial (g)	25.54	26.29	26.42	25.54	26.06	26.43	25.56	26.24	26.52	25.53	25.78	26.55	25.82	25.91	26.64
Biomasa final (g)	214.98	264.24	240.41	270.11	279.77	270.22	305.72	342.65	306.35	334.16	353.57	343.19	341.08	355.01	341.03
Ganancia de Biomasa (g)	189.44	237.95	213.99	244.57	253.71	243.79	280.16	316.41	279.83	308.63	327.79	316.64	315.26	329.10	314.39
Peso inicial promedio (g)	2.55	2.63	2.64	2.55	2.61	2.64	2.56	2.62	2.65	2.55	2.58	2.66	2.58	2.59	2.66
Peso final promedio(g)	21.50	26.42	24.04	27.01	27.98	27.02	30.57	34.27	30.64	33.42	35.36	34.32	34.11	35.50	34.10
Ganancia de peso promedio (g)	18.94	23.80	21.40	24.46	25.37	24.38	28.02	31.64	27.98	30.86	32.78	31.66	31.53	32.91	31.44
Ganancia de peso diario promedio(g)	0.45	0.57	0.51	0.58	0.60	0.58	0.67	0.75	0.67	0.73	0.78	0.75	0.75	0.78	0.75
Consumo de alimento (g)	19.18	24.64	20.19	22.09	21.35	22.35	22.75	24.63	23.68	24.14	24.83	25.83	24.21	24.74	23.36
Conversión alimenticia	1.01	1.04	0.94	0.90	0.84	0.92	0.81	0.78	0.85	0.78	0.76	0.82	0.77	0.75	0.74
Longitud inicial (cm)	4.68	4.72	4.73	4.7	4.75	4.72	4.6	4.7	4.72	4.67	4.72	4.77	4.62	4.85	4.77
Longitud final (cm)	9.69	10.42	9.9	10.12	10.45	10.49	10.8	11.11	10.5	10.82	11.26	11.17	11.35	11.6	11.56
Ganancia de longitud (cm)	5.01	5.7	5.17	5.42	5.7	5.77	6.2	6.41	5.78	6.15	6.54	6.4	6.73	6.75	6.79

ANEXO 13: Análisis de varianza de los parámetros productivos de la prueba de requerimiento

	Fuente variación	de GL	Suma cuadrados	de Cuadrado medio	F valor	P- valor
	Tratamiento	4	0.06151	0.01538	0.07	0.991
Peso inicial	Error	10	2.30827	0.23083		
	Total	14	2.36977			
	Tratamiento	4	256.9	64.226	25.82	0.000
Peso final	Error	10	24.88	2.488		
	Total	14	281.78			
	Tratamiento	4	0.14567	0.036417	26.29	0.000
Ganancia de peso diario	Error	10	0.01385	0.001385		
	Total	14	0.15952			
	Tratamiento	4	0.11337	0.028344	23.39	0.000
Conversión alimenticia	Error	10	0.01212	0.001212		
	Total	14	0.12549			