



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA
CALIFORNIA**



**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS**

**EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE HARINA DE
SUBPRODUCTO AVÍCOLA POR HARINA DE BOVINO SOBRE
LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS DEL CAMARÓN BLANCO**
Litopenaeus vannamei

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA EN
BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA**

PRESENTA

Escarlt López Ortiz

Ensenada, Baja California, México. Abril de 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
CAMPUS ENSENADA



"EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE HARINA DE SUBPRODUCTO AVÍCOLA POR
HARINA DE BOVINO SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS DEL CAMARÓN
BLANCO *Litopenaeus vannamei*"

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA

PRESENTA

Escarlit Lopez Ortiz
358010

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una
revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los
señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:



Dra. María Teresa Viana Castrillón

Directora de tesis



Dr. Oscar Basilio del Río Zaragoza

Sinodal




Dr. Juan Gabriel Correa Reyes

Sinodal

"Por la Realización Plena del Ser"

Sello de la
facultad



C.c.p.- Archivo
C.c.p.- Minutario

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, la Dra. María Teresa Viana Castrillón por aceptarme como su estudiante, primero como ayudantía y posteriormente como su alumna de tesis. Gracias por todo el apoyo brindado dentro y fuera del laboratorio, por escucharme cuando algo me preocupaba, así como también por las experiencias que he tenido en este laboratorio. Mil gracias.

A mis sinodales, Dr. Oscar y Dr. Gabriel, por su ayuda y contribución durante la realización de este trabajo.

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas y el Laboratorio de Nutrición y Fisiología Digestiva por la oportunidad de haber trabajado en sus instalaciones, y en especial a la Facultad de Ciencias Marinas que fue el lugar donde conocí a personas que formarán parte de mi vida.

Gracias a todos los integrantes del laboratorio que me apoyaron en alguna actividad, en especial a Aurora y Andrea que desde el día que llegué al laboratorio me ayudaron y me guiaron en cualquier duda que tenía, son unas excelentes maestras, gracias por su amistad. Y Adrián no se queda atrás, gracias por las salidas y risas con Jhos, sobre todo por tus consejos cuando teníamos crisis existenciales.

A mi familia por apoyarme durante todo este trayecto, por escucharme cuando les contaba lo que hacía día a día en el laboratorio, por sus consejos, el amor, la motivación y el apoyo incondicional. Gracias por creer en mí, este logro es gran parte gracias a ustedes.

A Martín, que gracias a él me animé a tomar la ayudantía con la Dra. Tere, este trabajo también es gracias a ti. Gracias por tu apoyo incondicional en todo momento, las risas, comida y amor durante todo este tiempo.

Índice

Resumen	5
Lista de cuadros	6
Lista de figuras	7
1. Introducción	8
2. Antecedentes	10
3. Hipótesis	13
4. Objetivo	13
4.1. Objetivo general	13
4.2. Objetivos específicos	13
5. Materiales y métodos	14
5.1. Preparación de las dietas	14
5.2. Diseño experimental y alimentación	16
5.3. Composición proximal de dietas experimentales	17
5.4. Crecimiento y recolección de muestras	18
5.5. Digestibilidad aparente	19
5.6. Análisis de ácidos grasos (dieta y hepatopáncreas)	20
5.7. Química sanguínea	22
5.8. Análisis estadísticos	23
6. Resultados	24
6.1. Análisis proximales de las dietas	24
6.2. Composición de ácidos grasos en la dieta	25
6.3. Digestibilidad aparente	26
6.4. Índices biológicos	27
6.5. Perfil de ácidos grasos en hepatopáncreas de camarón	29
6.6. Química sanguínea	31
7. Discusión	32
8. Conclusiones	37
9. Recomendaciones	37
10. Bibliografía	37

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo el evaluar la sustitución parcial a total de harina de subproductos avícolas (HSA) por harina de subproductos bovino (HB) bajo una dieta libre de pescado para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en donde ambas representaban cerca del 50% del total del contenido proteico. Para ello, se elaboraron cuatro dietas para contener 43.5% de proteína cruda (PC) y 9.5% de grasa cruda sin agregar harina y aceite de pescado. La dieta Control contenía 0% de HB, la cual se fue incluyendo progresivamente (bajo bovino (13.6), medio bovino (27.2) y alto bovino (40.7%)) hasta sustituir completamente la HSA. En grupos por triplicado se distribuyeron al azar 360 camarones (0.47 ± 0.006 g) en 12 estanques (30 camarones por estanque). Después de siete semanas de experimentación, se evaluaron los índices biológicos, química de la hemolinfa, digestibilidad aparente (%) y el perfil de ácidos grasos. Se observó que el tratamiento alto bovino (AB) mejoró los índices biológicos en comparación con el Control. Se encontraron diferencias significativas como mayor peso final (2.66 ± 0.13 g), ganancia de peso (2.2 ± 0.1 g) y tasa específica de crecimiento (3.4 ± 0.1). Además, el menor consumo de alimento observado en AB resultó con un menor factor de conversión alimenticia (1.5 ± 0.12) que el grupo Control (2.8 ± 0.12). En cuanto a la supervivencia, el tratamiento AB presentó el menor porcentaje (88.9 ± 4.6), mientras que la dieta Control presentó la mayor supervivencia (100%). La mayor digestibilidad aparente en porcentaje de la materia seca (%) se observó para el tratamiento AB (91.5 ± 0.3). A su vez, el grupo Control tuvo la menor digestibilidad aparente (85.8 ± 0.6), encontrando diferencias significativas entre los tratamientos con HB respecto al grupo Control. En cuanto a la química de la hemolinfa, se observó una baja concentración de proteína libre en el tratamiento con medio bovino (MB). Además, la HB mostró diferencias significativas entre tratamientos, particularmente en el tratamiento AB, lo que resultó en niveles más altos de colesterol y triglicéridos. Por tanto, se concluye que la HB es una fuente de proteína con altas posibilidades de ser incluida en las dietas de los camarones, resultando con mejores beneficios en cuanto a su desempeño. Sin embargo, se recomienda más investigación sobre su efecto sobre el metabolismo de los lípidos y supervivencia.

Palabras clave

Nutrición, camarón, parámetros productivos, harinas de subproducto, bovino, ave, digestibilidad, ácidos grasos, química sanguínea.

Lista de cuadros

Cuadro I. Composición de dietas experimentales formuladas con cuatro niveles de sustitución de harina de subproducto de ave por harina de bovino.	15
Cuadro II. Distribución aleatoria de las cuatro dietas por estanque.....	16
Cuadro III. Composición proximal de las cuatro dietas experimentales con sustitución de HB (media \pm de) para camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	24
Cuadro IV. Perfil de ácidos grasos en dietas con cuatro niveles de sustitución de harina de subproducto avícola por harina de bovino para alimentar a <i>Litopenaeus vannamei</i>	25
Cuadro V. Digestibilidad aparente en materia seca (%) de las cuatro dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de HB.	26
Cuadro VI. Índices biológicos en <i>Litopenaeus vannamei</i> después de ser alimentados durante 54 días con cuatro dietas que contenían diferentes niveles de sustitución de harina de bovino (media \pm de).	27
Cuadro VII. Perfil de ácidos grasos (%) en hepatopáncreas de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentados durante 54 días con cuatro dietas con diferente nivel de sustitución de harina de bovino (media \pm de).	30
Cuadro VIII. Parámetros de la química sanguínea de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentados durante 54 días con dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de harina de subproductos bovinos (media \pm de).	31

Lista de figuras

Figura 1. Análisis de regresión polinomial (cuadrática) entre las cuatro dietas con diferentes niveles de inclusión de HB y digestibilidad aparente26

Figura 2. Análisis de regresión polinomial (cuadrática) entre las cuatro dietas con diferentes niveles de inclusión de HB y la ganancia de peso (peso final), tasa de crecimiento específica (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) e índice hepatoesomático (IHS).....28

1. Introducción

La acuicultura es uno de los sectores de producción de alimento que ha crecido considerablemente en los últimos años, tanto en la producción de especies dulceacuícolas y marinas. Actividad que constituye una fuente de ingresos importantes para países como Asia, Europa y América Latina. En 2016, la producción mundial de animales acuáticos procedentes de la actividad acuícola ascendió a 110.2 millones de toneladas con un valor estimado de \$243,500 millones de dólares (USD) (FAO, 2018). Los crustáceos decápodos (en especial camarones), son uno de los organismos más cultivados a gran escala debido a la alta demanda comercial a nivel mundial, con una producción de 7.9 millones de toneladas con un valor de \$57,100 millones de dólares (USD) (FAO, 2018).

El camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) es una especie que es cultivada a nivel mundial ya que tolera un amplio rango de salinidades y temperaturas, lo que lo convierte en una de las especies más importantes en la acuicultura debido a su producción. En 2020, la producción mundial del camarón blanco alcanzó casi 4 millones de toneladas, teniendo un aumento del 3 al 5% con respecto al 2019 (Li *et al.*, 2018; Gonzabay-Crespín *et al.*, 2021).

El camarón blanco *L. vannamei* es nativo de la costa occidental del continente americano presentando una distribución natural desde Sonora, México hasta Perú en donde las temperaturas del agua son superiores a los 20 °C durante todo el año (FAO, 2006). En la naturaleza, los adultos viven y se reproducen en mar abierto, mientras que las etapas postlarval, juvenil y preadulta se encuentran en estuarios, lagunas costeras y manglares. Los machos alcanzan la madurez sexual a partir de los 20 g y las hembras a los 28 g, aproximadamente entre los seis y siete meses de edad (FAO, 2006). Se clasifican como omnívoros ya que pueden ser filtradores, carroñeros y predadores. Además, entre su contenido estomacal se han encontrado restos de otros crustáceos, moluscos, equinodermos,

tejidos de peces, materia vegetal, algas, detritus, etc., lo que permite que este organismo cuando se encuentra en cautiverio pueda ser alimentado con dietas formuladas (NRC, 2011).

La proteína para el alimento se obtiene tradicionalmente de fuentes de animales marinos como el pescado, ya que contienen un alto valor nutricional al ser altamente digestible, con una cantidad deseable de aminoácidos esenciales, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales. Sin embargo, los precios de la harina y aceite de pescado han incrementado considerablemente llegando a costar hasta \$1,400 USD/TM de harina de pescado (HP) y hasta \$6,000 USD/TM el aceite de pescado (AP), de acuerdo con los productores de alimento (FAO, 2020). En cualquier sistema de producción acuícola, el alimento llega a representar más del 60% de los costos de producción (Bureau, 2006; Han *et al.*, 2018), que al ser limitados resulta en una mayor demanda y menor disponibilidad incrementando sus costos.

Para permitir un crecimiento sostenible de la acuicultura, se requiere de la búsqueda de nuevos ingredientes que permitan la elaboración de una mayor cantidad de alimentos. El alimento para camarón se encuentra formulado para contener entre 35 a 45% de proteína. Cantidad que puede variar dependiendo de la especie, hábitos alimenticios, edad y temperatura del agua (NRC, 2011). A partir de esto, se han evaluado otras alternativas mediante sustituciones parciales o totales empleando harinas con proteína vegetal como cereales, legumbres y semillas oleaginosas. No obstante, se ha observado una disminución en el crecimiento del organismo e ingesta del alimento y la biodisponibilidad de nutrientes en el cuerpo (Gatlin *et al.*, 2007; Suárez *et al.*, 2009; Gasco *et al.*, 2018).

2. Antecedentes

En los últimos años, se han realizado un gran número de estudios para encontrar fuentes alternativas a la HP que puedan ser empleadas en las dietas formuladas para cultivos acuícolas. Entre ellas, las que más se han utilizado son las de origen vegetal. Sin embargo, diversos estudios han apuntado a que un exceso de materias vegetales, no solo provocan un menor crecimiento debido a una menor digestibilidad, sino también a efectos negativos sobre el epitelio intestinal (Sitjá-Bobadilla *et al.*, 2005; McLean *et al.*, 2020). Lo anterior ha hecho que se busquen otras alternativas como proteína unicelular, insectos y harinas cárnicas de rendimiento (González-Salas *et al.*, 2014; Dantagnan, 2019; Jones *et al.*, 2020; Pérez-Velázquez *et al.*, 2023)

Las harinas de subproductos de origen animal terrestre son materias primas que han sido tratadas previamente para su uso directo en la elaboración de alimentos, convirtiéndolos en una alternativa sostenible y rentable. Entre los productos de origen animal que se han estudiado, la harina de subproductos avícolas (HSA) es el producto de procesamiento animal líder en venta en el mercado. Por lo que la demanda por este producto ha crecido en exceso al ser el principal ingrediente proteico utilizado en la mayoría de los alimentos manufacturados para la producción animal, particularmente para mascotas y acuicultura. Aun cuando la producción de la HSA crece de manera constante, ésta no logra cubrir las necesidades del mercado (Rocker *et al.*, 2021 y Volpato *et al.*, 2022), además de que su precio se ha ido incrementando. La aceptación de la HSA se debe en particular a los resultados positivos que se han obtenido en la sustitución parcial a total de la HP sin comprometer el crecimiento de los organismos (Wei *et al.*, 2006; Parés-Sierra *et al.*, 2014; Moutinho *et al.*, 2017; Barreto *et al.*, 2019).

Algunos estudios sobre la HSA informan que puede ser reemplazada hasta en un 75% la HP sin encontrar alguna disminución significativa en el crecimiento de peces (Sabbagh *et al.*, 2019). Un estudio realizado por Kaparanagiotidis *et al.* (2019) demostró que el 50% de HP

puede ser reemplazada por HSA sin comprometer el rendimiento del crecimiento, la composición proximal y uso del alimento. Además, la producción de aves a nivel mundial se espera que siga creciendo por su facilidad de alimentación, ciclos productivos en corto tiempo, entre otros, lo cual hace que este subproducto se encuentre disponible (Kaparanagiotidis *et al.*, 2019; Cabrera-Núñez *et al.*, 2018). Si bien estos datos son correctos, también se ha demostrado que, si se complementa dicha sustitución con la adición de DHA de microalgas, la HP puede llegar a ser totalmente sustituida (Mata-Sotres *et al.*, 2018; Araújo *et al.*, 2019).

Por otro lado, la harina de carne y hueso de origen bovino (HB) es otro tipo de subproducto que se produce a partir de los residuos de la producción animal bovina hecha a partir de los restos no comestibles para el consumo humano de manera directa. Esta materia prima proviene del ganado vacuno y se procesa de manera similar a la HSA. La HB representa más del 10% del total de materia prima procesada de la producción de carne para consumo humano (García y Phillips, 2009). El método de tratamiento más utilizado es el proceso de extracción en seco en donde se elimina el agua del material molido mediante secado antes de separar la grasa de la masa. Según Skovgaard (2012), la esterilización debe realizarse siguiendo la regulación de subproductos de la Unión Europea a 133 °C durante 20 minutos, lo que se puede realizar antes (preesterilización) o después (postesterilización) del proceso de secado, donde dicho secado se realiza a presión atmosférica con una temperatura entre 100 °C y 120 °C.

Ahora bien, aunque la producción de bovino no tiene las mismas expectativas de crecimiento que la de ave, es un subproducto que hasta la fecha está siendo subutilizado. Diversos autores han realizado investigaciones sobre el uso de HB en especies de importancia comercial para determinar el nivel de inclusión en las dietas. En donde han presentado una alta digestibilidad, altas concentraciones de proteína (cerca de 50%), y, sobre todo, que no

contiene factores anti nutricionales (Wei *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2010; Suloma *et al.*, 2013; Moutinho *et al.*, 2017).

La subutilización de este subproducto se debe a la reticencia de algunos usuarios al consumo de especies que puedan transmitir ciertas enfermedades, como el llamado encefalopatía espongiforme bovina, enfermedad que causó mucha preocupación en los años 90's (Balfagón y Ramoneda, 2001). Sin embargo, después de demostrar su inocuidad desde hace muchos años, y que desde el año 2014 la Norma Europea permitió su uso, aún sigue habiendo cierto recelo para su utilización (Moutinho *et al.*, 2017; Kaparanagiotidis *et al.*, 2019).

Por otro lado, nunca se ha comprobado que la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) pueda ser transmitida a organismos acuáticos (Ingrosso *et al.*, 2006). Se ha demostrado que el proceso de producción de las HB disminuye la capacidad infectiva del prion que causa la EEB, aunque no se ha encontrado algún método que logre inactivarlo totalmente (Taylor *et al.*, 1995). Actualmente, la FDA solo exige que las materias primas que contengan subproductos bovinos no se utilicen para elaborar alimentos para otros rumiantes. Por lo que la HB puede utilizarse en organismos acuícolas y mascotas (Meeker y Hamilton, 2006). Por lo anterior, resulta importante el medir el efecto de la sustitución de la HSA por HB en dietas dentro del sector acuícola.

3. Hipótesis

La harina de bovino en sustitución de la harina de subproducto avícola en la dieta no afectará los parámetros productivos del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

4. Objetivo

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la sustitución parcial a total de harina de subproducto avícola por harina de bovino sobre el desempeño, perfil de ácidos grasos y química sanguínea del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

4.2. Objetivos específicos

- Medir el desempeño productivo de *Litopenaeus vannamei* al ser alimentado con cuatro dietas elaboradas con diferente nivel de sustitución de harina de bovino (0, 13.6, 27.2 y 40.7%).
- Determinar el efecto de los ácidos grasos de las dietas con relación a los del hepatopáncreas y evaluar su utilización versus almacenamiento.
- Evaluar la química sanguínea de los camarones después de ser alimentados con las dietas elaboradas con diferente nivel de sustitución de harina de bovino.
- Evaluar la digestibilidad aparente (%) de las dietas elaboradas a partir de harina de bovino.

5. Materiales y métodos

5.1. Preparación de las dietas

A partir de harina de subproducto avícola y harina de bovino, se formularon cuatro dietas para contener 43.5% de proteína cruda (PC) y 9.5% de grasa cruda (GC) en donde la inclusión de HB aumentó de una sustitución parcial a total de HSA (Cuadro I). Las dietas experimentales fueron elaboradas en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología Digestiva (Laboratorio FEED-AQUA, de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Ensenada, B.C., México).

Los macroingredientes pulverizados a 0.5 mm (Inminex M-300) y tamizados (Kemutec-Gardner K300, EEUU) se mezclaron en una cortadora/mezcladora vertical (Robot Coupe R-60, EEUU) hasta obtener una masa homogénea y a 60 °C. Se incorporaron los micro ingredientes a la mezcla y posteriormente los ingredientes líquidos (sebo de res y gelatina) hasta lograr la textura deseada. Las dietas se granularon a 5 mm usando un molino de alimentos comercial (Tor-Rey, modelo M32-5, México) y se secaron a 60 °C en un horno de aire forzado durante 24 horas. Una vez secas, las dietas se conservaron en refrigeración a 4 °C durante todo el experimento.

Cuadro I. Composición de dietas experimentales formuladas con cuatro niveles de sustitución de harina de subproducto de ave por harina de bovino.

Ingredientes	Tratamiento			
	Control %	BB %	MB %	AB %
Harina de bovino ^a	0	13.59	27.16	40.69
Harina de subproducto avícola ^a	30	20	10	0
Soya 65% ADM ^b	20	20	20	20
Harina blanca de trigo ^c	9.89	6.1	2.33	0
Gelatina ^d	8	8	8	8
Gluten de maíz ^e	4	4	4	4
Sebo ^f	0	0.2	0.6	0.8
Maicena ^g	17	17	17	15.6
Metionina ^g	1	1	1	1
Rovimix ^h	3	3	3	3
Stay C ^h	0.5	0.5	0.5	0.5
Fosfolípidos ⁱ	1	1	1	1
Colesterol ^j	0.5	0.5	0.5	0.5
DHA-Nature TM 17% ^k	5	5	5	5
Benzoato de sodio ^l	0.1	0.1	0.1	0.1
BHT	0.01	0.01	0.01	0.01
Composición proximal (% en materia seca)				
Proteína	43.57	43.54	43.51	43.63
Lípidos	9.50	9.50	9.49	9.51
Cenizas	5.65	5.65	5.65	5.65
ELN	41.28	41.31	41.35	41.21

^aScoular de México S. de R.L. de C.V.; ^bSoycomilk ADM; ^cMolinera del Valle S.A. de C.V., México; ^dProgel Mexicana S.A. de C.V., México; ^eIngredión México S.A. de C.V., México; ^fdonado por Grasas y Derivados de Tijuana; ^gFuture Foods S.A. de C.V.; ^hDSM Nutritional Products México, S.A. de C.V.; ⁱComercializador Costa Bella S. de R. L. de C. V., Ensenada, BC., México; ^jMitsui & Co, México; ^kADM; ^lSigma Aldrich.

5.2. Diseño experimental y alimentación

Se prepararon 12 estanques circulares de fibra de vidrio de 500 L cada uno, conectados en un sistema de recirculación a un biofiltro utilizando piedras de aireación en cada estanque. Se distribuyeron 30 camarones (*L. vannamei*) aleatoriamente en cada uno con un peso promedio 0.47 ± 0.006 g. Los organismos se obtuvieron de un laboratorio comercial (AJIMAR, Mazatlán, Sinaloa, México) y se aclimataron con una microdieta durante cuatro semanas hasta alcanzar el peso deseado para el inicio del experimento.

Cada una de las dietas se distribuyó al azar en los 12 estanques por triplicado: Control (0% bovino), BB (bajo bovino (13.6%)), MB (medio bovino (27.1%)) y AB (alto bovino (40.7%)). Una vez realizada la distribución, se alimentaron con las dietas de acuerdo con su peso (10-12%) cuatro veces al día (8:00, 11:00, 14:00 y 17:00) (Cuadro II).

Cuadro II. Distribución aleatoria de las cuatro dietas por estanque.

Dieta	Estanques
Control (C)	1, 5 y 9
Bajo (BB)	2, 6 y 10
Medio (MB)	3, 7 y 11
Alto (AB)	4, 8 y 12

Los niveles de oxígeno, salinidad y temperatura de los estanques se registraron diariamente (YSI-55, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA); mientras que los niveles totales de nitritos y amonios dos veces por semana (API Test Kit, Mars Fishcare Inc, Chalfont, PA, USA). La temperatura se mantuvo a 27.8 °C, salinidad a 35 ppt y el nivel de oxígeno a 6-8 mg*L⁻¹.

5.3. Composición proximal de dietas experimentales

Todas las dietas experimentales se analizaron por triplicado para obtener la composición proximal de acuerdo con las técnicas oficiales de la AOAC (1990). La humedad y cenizas se determinaron gravimétricamente secando muestras molidas a 60 °C durante 24 horas e incinerando la muestra molida en una mufla a 550 °C durante 6 horas. El porcentaje de humedad y cenizas se obtuvo mediante diferencia de peso.

La proteína cruda se determinó por el método de Kjeldahl de acuerdo con la AOAC (1990) con un equipo automático VELP (KJELDATHERM®/VAPODEST®). La muestra se digirió a alta temperatura con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador y antiespumante. Posteriormente, se destiló atrapando el nitrógeno disuelto, en el ácido bórico. Las muestras obtenidas después de la destilación se titularon utilizando una solución Shiro Toshiro como indicador y ácido clorhídrico 0.02 N. Los moles de N obtenidos fueron multiplicados por un factor establecido de 6.25 para obtener el valor de la proteína cruda (AOAC, 1990).

Para el contenido de grasa cruda, se cuantificó gravimétricamente por arrastre según el método de Soxhlet de acuerdo con la AOAC (1990) usando éter de petróleo. Una vez secas las muestras, se calculó el contenido por diferencia.

5.4. Crecimiento y recolección de muestras

Después de siete semanas (54 días) de experimentación, se contaron y pesaron los organismos de cada estanque con una balanza digital (Ohaus Scout®). Los organismos se sacrificaron por hipotermia bajo el protocolo establecido por el laboratorio. El rendimiento productivo se evaluó de la siguiente manera:

Tasa de Crecimiento Específico (TCE) (1)

$$TCE = \left(\frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{Días}} \right) * 100$$

Coefficiente térmico de crecimiento (CTC) (2)

$$CTC = 1000 * \frac{(\text{Peso final})^{1/3} - (\text{Peso inicial})^{1/3}}{\text{Días} * T^{\circ}\text{C}}$$

Ganancia de peso (g) (3)

$$GP (g) = \text{Peso individual final} - \text{Peso individual inicial}$$

Ganancia de peso en porcentaje (GP) (4)

$$\%GP = \left(\frac{\text{Promedio peso final} - \text{Promedio peso inicial}}{\text{Promedio peso inicial}} \right) * 100$$

Factor de conversión alimenticia (FCA) (5)

$$FCA = \left(\frac{\text{Promedio consumo de alimento}}{\text{Promedio de peso ganado}} \right)$$

Índice hepatosomático (6)

$$IHS = 100 * \left(\frac{\text{Peso del hepatopáncreas}}{\text{Peso total del organismo}} \right)$$

Supervivencia (7)

$$Sob (\%) = \left(\frac{\text{Número final de organismos}}{\text{Número inicial de organismos}} \right) * 100$$

5.5. Digestibilidad aparente

Después de dos semanas de iniciar el experimento, se recolectaron heces diariamente de cada uno de los estanques para realizar la determinación de digestibilidad aparente (*in vivo*). Posterior a cada alimentación, se realizó un sifoneo a los estanques y se filtró el agua con un tamiz de 350 micras para recolectar las heces fecales de los organismos. Una vez recolectadas, se enjuagaron con agua destilada, se centrifugaron y se colocaron en tubos Falcon™ y se conservaron a -18 °C hasta el momento de su análisis.

Al finalizar, se determinó el contenido (%) de cenizas insolubles en ácido como marcador interno de las dietas experimentales recolectadas durante el experimento. Se realizó la metodología descrita por Tejada de Hernández (1992) y modificada por Montaña-Vargas *et al.* (2002). Las heces se pesaron y se colocaron en cápsulas de porcelana dentro de un horno mufla y se calcinaron a 550 °C durante 6 horas. Una vez terminado el proceso de calcinación, en vasos de precipitado se agregó 5 mL de HCl 2N y se colocaron las heces previamente calcinadas. Se taparon con un vidrio de reloj para evitar la evaporación y se dejaron en una plancha de calentamiento a 100° C hasta alcanzar su punto de ebullición. Se dejaron enfriar por cinco minutos y la muestra contenida en los vasos de precipitado se filtró utilizando filtros Whatman® de fibra de vidrio GF-F de 47 mm de diámetro y un matraz Kitasato conectado a una bomba de vacío. Se realizaron enjuagues con agua destilada caliente y posteriormente, el filtro se colocó en papel de aluminio y se volvió a calcinar en una mufla a 550 °C durante 6 horas. Una vez calcinadas las muestras, se pesaron y se calculó la digestibilidad aparente en materia seca según Tejada de Hernández (1992):

$$\%CI = \left(\frac{WA - WC}{DMW} \right) * 100$$

En donde:

CI: Cenizas insolubles en ácido

WA: Peso de cenizas (g)

WC: Peso de crisol (g)

DMW: Peso muestra seca

$$\%DAMS = 100 - \left(\frac{100 * \% \text{ cenizas en el alimento}}{\% \text{ cenizas en las heces}} \right)$$

Donde:

DAMS: Digestibilidad aparente en materia seca

5.6. Análisis de ácidos grasos (dieta y hepatopáncreas)

Para la extracción de ácidos grasos en dietas y tejidos, se siguió la metodología adaptada de Folch *et al.* (1957) utilizando diclorometano en lugar de cloroformo. Se realizó de la siguiente manera: en viales Pyrex™ se pesaron 100 mg de muestra seca de alimento o hepatopáncreas, se agregó 400 µL de solución de extracción (2:1 diclorometano-metanol) y 50 µL de BHT al 1%. La mezcla se agitó en vórtex y las muestras se dejaron reposar 24 horas a 4 °C tapadas con papel aluminio para evitar la luz. Transcurrido el tiempo, la mezcla se agitó de nuevo en vórtex y se centrifugó por 10 min a 3,000 rpm a 4 °C. Con una pipeta Pasteur, se extrajo el sobrenadante y se colocó en un vial nuevo.

El proceso de saponificación se llevó a cabo de acuerdo con la metodología de Christie (1993), que consistió en agregar 100 µL de una solución 0.3N de KOH metanólica al 90% a la muestra de extracción, para después incubarla en baño maría a 60 °C por 30 min. Posteriormente, se agregaron 300 µL de agua destilada y 200 µL de hexano, se centrifugó por 5 min a 3,000 rpm a 4 °C. Se descartó la capa superior y se agregaron nuevamente 300 µL de agua destilada, una gota de HCl 6N y 200 µL para centrifugar nuevamente.

La metilación se llevó a cabo añadiendo 500 µL de trifluoruro de boro (BF₃) al 14% en metanol (Sigma B1252) y se calentaron en la plancha de agitación a 60 °C por 15 min.

Después se agregó 300 μL de agua destilada y 200 μL de hexano, la fase de agua se descartó y solo se dejó la fase con hexano para su posterior análisis en el cromatógrafo de gases.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES), se analizaron mediante cromatografía de gases equipada con un detector de ionización de flama (Agilent GC 6880, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.) En donde se utilizó nitrógeno como gas acarreador. Las condiciones de la columna GC (60 m x 0.25 mm con película de 0.25 μm de espesor; Agilent 122-2362 dB-23) fueron las siguientes: temperatura inicial del horno de 50 $^{\circ}\text{C}$ durante 1 min, de 50 a 140 $^{\circ}\text{C}$ a 30 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, manteniéndose a 140 $^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos, 140 a 240 $^{\circ}\text{C}$ a 4 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ y finalmente a 240 $^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. La temperatura del inyector se mantuvo a 230 $^{\circ}\text{C}$ y 260 $^{\circ}\text{C}$. Por último, los FAMES se identificaron y cuantificaron comparando los tiempos de retención a partir de una mezcla estándar (mezcla de 37 componentes de FAME, Supelco/Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

5.7. Química sanguínea

Para la química sanguínea, se siguió la metodología descrita por del Río-Zaragoza *et al.* (2021) y Pintor *et al.* (2022). Todas las lecturas de absorbancia fueron leídas en un lector de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific). A partir de la hemolinfa extraída, se analizó la proteína total utilizando el reactivo Biuret (Sigma-Aldrich) y se midió a 540 nm. La curva estándar se obtuvo utilizando albúmina de suero bovino (BSA) y se reportó como proteína equivalente a BSA.

La glucosa se determinó cuantitativamente con un kit (Valtek Diagnostics, Santiago de Chile) en el que la glucosa es oxidada a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno por la glucosa oxidasa. Luego, el peróxido de hidrógeno reacciona con el ácido p-hidroxibenzoico y la 4-amino-antipirina, en presencia de la peroxidasa. El producto coloreado se midió en un espectrofotómetro a 505 nm.

Los triglicéridos se estimaron tras la hidrólisis con una lipasa específica que produce ácidos grasos y glicerol. La enzima glicerol quinasa fosforila el glicerol, y el glicerol-1-fosfato es oxidado por la glicerol-fosfato oxidasa generando peróxido de hidrógeno, que luego se determinó con 4-amino-antipirina y ácido 3,5-dicloro-2-hidroxi-bencensulfónico en presencia de peroxidasa y se midió a 520 nm.

Por último, el colesterol se determinó mediante un método enzimático en el que el colesterol-esterasa hidroliza el colesterol, y el colesterol libre es oxidado por el colesterol-oxidasa produciendo peróxido de hidrógeno, el cual se cuantificó mediante el sistema cromogénico que contiene ácido p-hidroxibenzoico y 4-aminoantipirina en presencia de peroxidasa y se midió a 505 nm.

5.8. Análisis estadísticos

Las pruebas estadísticas se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics V23.0.0 Copyright (IBM Corporation 1989, 2011, USA) utilizando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un nivel de significancia de $P < 0.05$. En aquellos casos donde se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, se realizó una prueba post hoc de Tukey. Además, se realizaron regresiones polinomiales entre tratamientos y variables significativas para encontrar el mejor ajuste.

6. Resultados

6.1. Análisis proximales de las dietas

Las dietas experimentales con inclusión de harina de bovino (0, 13.6, 27.1 y 40.7%) reportadas en peso seco, mostraron diferencias significativas en todos los parámetros (Cuadro III). En cuanto al contenido de proteína, los tratamientos MB y AB presentaron el mayor contenido (46.71 y 47.71%, respectivamente). Por otro lado, la dieta control presentó el menor contenido de lípidos (6.30 ± 0.45) respecto a las otras dietas. Con respecto al contenido de cenizas, al aumentar la inclusión de HB en las dietas, las cenizas aumentaron por lo que la dieta AB presentó el mayor contenido (16.73 ± 0.13).

Cuadro III. Composición proximal de las cuatro dietas experimentales con sustitución de HB (media \pm de) para camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

Parámetros (%)	Tratamiento			
	Control	BB	MB	AB
Humedad	6.11 ± 0.40	6.67 ± 0.14	4.95 ± 0.25	7.23 ± 0.17
Proteína	46.21 ± 0.45	46.02 ± 0.51	47.71 ± 0.35	46.71 ± 0.56
Lípidos	6.30 ± 0.45	7.30 ± 0.31	7.35 ± 0.35	7.14 ± 0.06
Cenizas	8.79 ± 0.05	12.00 ± 0.04	13.94 ± 0.42	16.73 ± 0.13
ELN	32.59	28.01	26.05	22.19

6.2. Composición de ácidos grasos en la dieta

El perfil de ácidos grasos de las cuatro dietas se muestra en el cuadro IV, mostrando un incremento gradual (%) en el ácido graso mirístico (14:0) de 11.20 a 12.95% y esteárico (18:0) de 6.65 a 10.16%.

El ácido palmitoleico (16:1) disminuyó de 3.14 a 1.87%; linoleico (18:2n6) de 15.64 a 8.96%; linolénico (18:3n3) de 1.09 a 0.84%; eicosenoico (20:1n9) de 0.29 a 0.22% y el eicosatrienoico (20:3n3) de 0.48 a 0.19%.

Cuadro IV. Perfil de ácidos grasos en dietas con cuatro niveles de sustitución de harina de subproducto avícola por harina de bovino para *Litopenaeus vannamei*.

Ácido graso	Control (%)	BB (%)	MB (%)	AB (%)
12:0	0.41	0.39	0.41	0.43
14:0	11.20	11.31	11.71	12.95
16:0	19.87	21.73	19.89	20.50
18:0	6.65	7.01	8.51	10.16
20:0	0.20	0.22	0.20	0.20
∑SFA	38.32	40.66	40.71	44.23
14:1	0.33	0.23	0.32	0.43
16:1	3.14	2.97	2.26	1.87
18:1n9	27.07	26.20	26.88	26.83
20:1n9	0.29	0.28	0.25	0.22
∑MUFA	30.84	29.67	29.71	29.34
18:2n6	15.64	14.90	11.00	8.96
20:4n6	0.41	0.45	0.62	0.48
∑PUFAn6	16.05	15.35	11.61	9.43
18:3n3	1.09	1.05	0.91	0.84
20:3n3	0.48	0.45	0.29	0.19
20:5n3	2.29	2.10	2.73	2.55
22:6n3	10.33	10.15	12.94	12.16
∑PUFAn3	14.19	13.75	16.88	15.74
∑PUFA	30.24	29.10	28.49	25.17
Otros	0.61	0.57	1.09	1.25

6.3. Digestibilidad aparente

La digestibilidad aparente de las dietas fue significativamente mayor en todos los tratamientos con inclusión de HB respecto al control (85.8 ± 0.6). La dieta AB presentó el mayor porcentaje de digestibilidad aparente (91.5 ± 0.3 ; Cuadro V). Se realizó una regresión polinomial en donde se observó una alta correlación entre la digestibilidad aparente ($R^2 = 0.986$) y las dietas (Figura 1).

Cuadro V. Digestibilidad aparente en materia seca (%) de las cuatro dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de HB.

Dieta	Digestibilidad aparente (%)
Control	85.8 ± 0.55^b
BB	90.2 ± 0.55^a
MB	91.3 ± 0.88^a
AB	91.5 ± 0.34^a
Valor P	0.001

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes (^{a,b,c}), indican diferencias estadísticas significativas entre las dietas experimentales, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

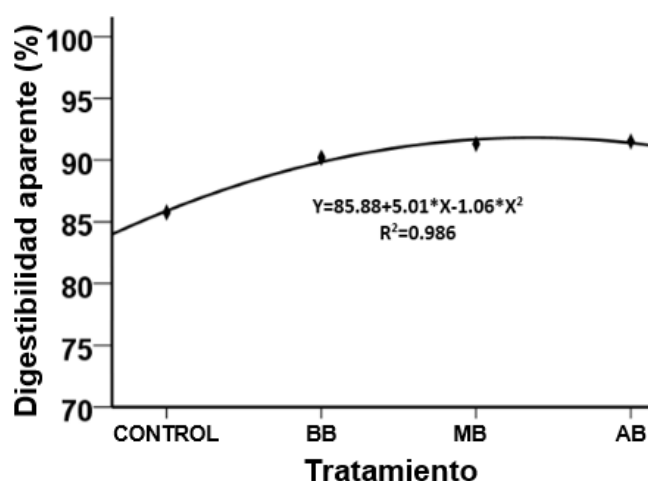


Figura 1. Análisis de regresión polinomial (cuadrática) entre las cuatro dietas con diferentes niveles de inclusión de HB y digestibilidad aparente. Los puntos indican los valores del Cuadro V. Las líneas indican las ecuaciones de regresión polinomial de mejor ajuste mientras que los valores de R^2 indican la potencia del modelo.

6.4. Índices biológicos

Después de 54 días de alimentación, la dieta AB presentó el mayor peso final (2.7 ± 0.1 g), ganancia de peso (2.2 ± 0.1 g), tasa de crecimiento específico (TCE) (3.4 ± 0.1 %), coeficiente térmico de crecimiento (CTC) (0.44 ± 0.02 %), y menor factor de conversión alimenticia (1.5 ± 3.8) (Cuadro VI). Sin embargo, al aumentar la HB en las dietas, la supervivencia fue disminuyendo por lo que la dieta AB presentó la menor supervivencia (88.9 ± 4.6 %).

Además, se realizaron regresiones polinomiales para observar la correlación entre el rendimiento general y las dietas (Figura 1). Se observó una correlación media entre los tratamientos y el peso final ($R^2=0.478$), TCE ($R^2=0.419$) y el FCA ($R^2=0.455$), mientras que una correlación baja entre el índice hepatosomático y las dietas ($R^2=0.245$).

Cuadro VI. Índices biológicos en *Litopenaeus vannamei* después de ser alimentados durante 54 días con cuatro dietas que contenían diferentes niveles de sustitución de harina de bovino (media \pm de).

Variables	Tratamientos				valor P
	Control	BB	MB	AB	
Peso inicial (g)	0.47 \pm 0.004	0.47 \pm 0.002	0.47 \pm 0.004	0.47 \pm 0.001	0.237
Peso final (g)	1.70 \pm 0.04 ^c	2.27 \pm 0.059 ^b	1.73 \pm 0.040 ^c	2.66 \pm 0.132 ^a	0.001
Ganancia en peso (g)	1.23 \pm 0.03 ^c	1.80 \pm 0.057 ^b	1.25 \pm 0.03 ^c	2.18 \pm 0.13 ^a	0.001
Ganancia de peso (%)	258.61 \pm 6.6 ^c	383.84 \pm 11.4 ^b	267.26 \pm 7.4 ^c	457.05 \pm 27.0 ^a	0.001
Supervivencia (%)	100 \pm 0 ^a	97.78 \pm 3.50 ^{ab}	96.67 \pm 4.43 ^{ab}	88.89 \pm 4.6 ^b	0.043
TCE (%)	2.55 \pm 0.03 ^c	3.15 \pm 0.04 ^b	2.60 \pm 0.04 ^c	3.43 \pm 0.09 ^a	0.001
FCA	2.76 \pm 2.12 ^a	1.93 \pm 2.38 ^b	2.65 \pm 2.73 ^a	1.51 \pm 3.78 ^c	0.001
Consumo de alimento (g)	339.27 \pm 2.46 ^{ab}	346.69 \pm 4.51 ^a	333.68 \pm 6.48 ^{ab}	328.47 \pm 4.34 ^b	0.049
IHS	6.32 \pm 0.41	5.73 \pm 0.22	8.06 \pm 2.77	6.64 \pm 1.25	0.748
CTC	0.30 \pm 0.005 ^c	0.39 \pm 0.007 ^b	0.30 \pm 0.006 ^c	0.44 \pm 0.016 ^a	0.001

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes (^{a,b,c}), indican diferencias estadísticas significativas entre las dietas experimentales (P <0.05). TCE = Tasa de crecimiento específica; FCA = Factor de conversión alimenticia; IHS = índice hepatosomático; CTC = Coeficiente térmico de crecimiento.

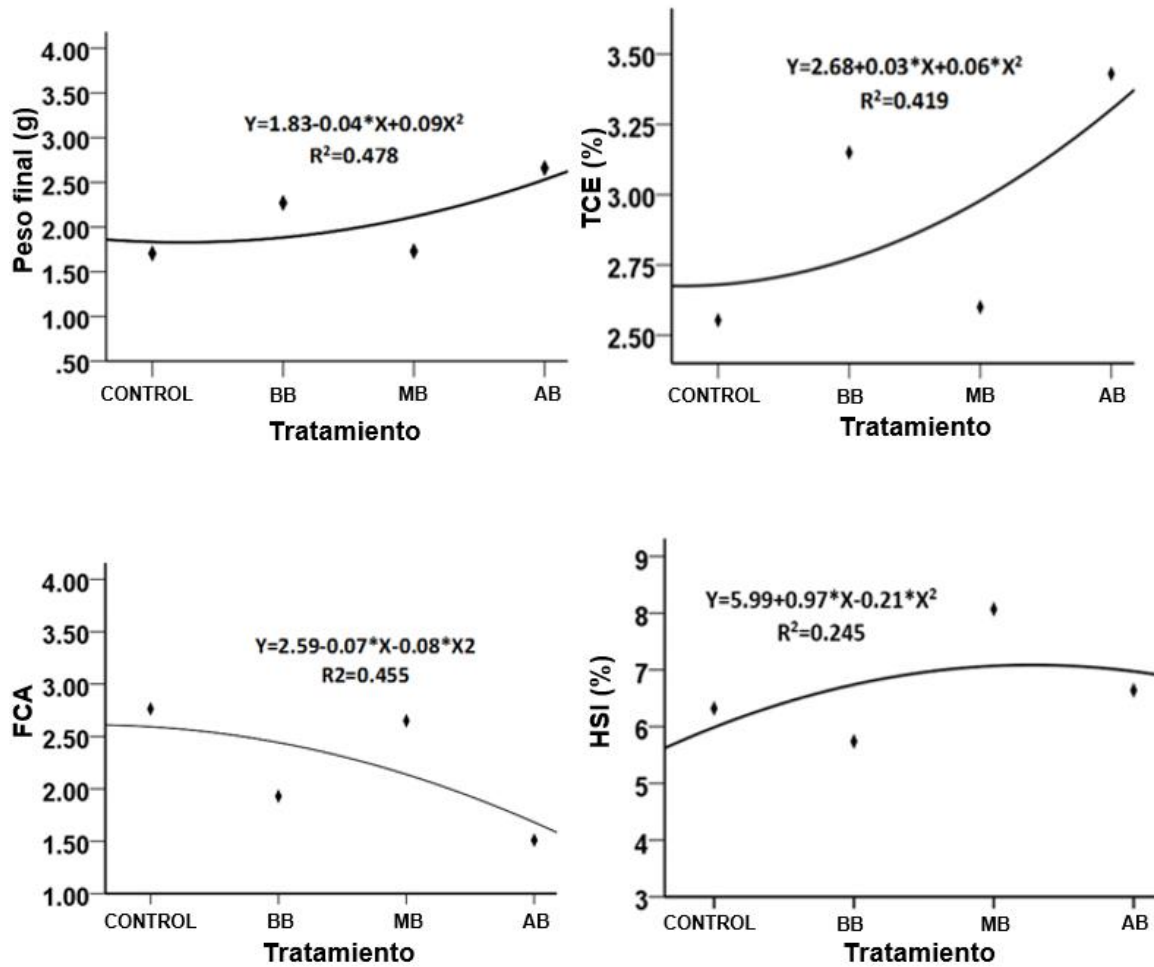


Figura 2. Análisis de regresión polinomial (cuadrática) entre las cuatro dietas con diferentes niveles de inclusión de HB y la ganancia de peso, tasa de crecimiento específica (TCE), factor de conversión alimenticia (FCR) e índice hepatosomático (HSI). Los puntos indican los valores del Cuadro VI. Las líneas indican las ecuaciones de regresión polinomial de mejor ajuste mientras que los valores de R^2 indican la potencia del modelo.

6.5. Perfil de ácidos grasos en hepatopáncreas de camarón

En el Cuadro VII, se encuentra el perfil de ácidos grasos del tejido hepatopancreático del camarón blanco alimentado con las distintas dietas y con diferentes niveles de inclusión de HB en donde se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) en los ácidos grasos saturados (SFA) como el mirístico (14:0), palmítico (16:0) y esteárico (18:0). En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), también se observaron diferencias significativas (< 0.05), en donde el ácido oleico (18:1n9) presentó una mayor acumulación con la dieta BB (33.72 ± 0.86) y AB (33.54 ± 0.57) así como también en el ácido eicosenoico (20:1n9) en la dieta control (1.05 ± 0)

Por otro lado, el ácido linoleico (18:2n6) resultó con diferencias significativas entre las dietas donde se observó una disminución al aumentar la inclusión de HB en las dietas. Por último, también se encontraron diferencias en el ácido eicosapentaenoico (20:5n3) y docosahexaenoico (22:6n3) donde presentaron mayor acumulación en la dieta AB (2.28 ± 0.12 y 12.67 ± 0.15 , respectivamente).

Cuadro VII. Perfil de ácidos grasos (%) en hepatopáncreas de *Litopenaeus vannamei* alimentados durante 54 días con cuatro dietas con diferente nivel de sustitución de harina de bovino (media \pm de).

Ácido graso	Dietas				valor <i>P</i>
	Control (%)	BB (%)	MB (%)	AB (%)	
14:0	3.28 \pm 0.96 ^b	3.27 \pm 0.10 ^b	4.53 \pm 0.09 ^a	4.40 \pm 0.26 ^a	0.04
16:0	18.54 \pm 0.69 ^c	23.07 \pm 0.89 ^a	19.72 \pm 0.40 ^{bc}	20.86 \pm 0.95 ^b	0.001
18:0	8.55 \pm 1.64 ^{ab}	6.85 \pm 0.23 ^c	8.85 \pm 0.57 ^a	7.65 \pm 0.39 ^{ab}	0.027
20:0	0.37 \pm 0.16	0.24 \pm 0.1	0.53 \pm 0.19	0.29 \pm 0.10	0.083
Σ SFA	30.76	33.44	33.65	33.21	
14:1	0.06 \pm 0.04 ^b	0.10 \pm 0.02 ^{ab}	0.22 \pm 0.11 ^a	0.19 \pm 0.02 ^{ab}	0.033
16:1	1.64 \pm 0.31 ^b	2.05 \pm 0.23 ^a	1.77 \pm 0.06 ^b	2.09 \pm 0.13 ^a	0.035
18:1n9	26.53 \pm 2.74 ^b	33.72 \pm 0.86 ^a	28.90 \pm 0.29 ^b	33.54 \pm 0.57 ^a	0.001
20:1n9	1.05 \pm 0 ^a	0.77 \pm 0.03 ^b	0.80 \pm 0.11 ^b	0.79 \pm 0.10 ^b	0.006
Σ MUFA	29.31	36.66	31.7	36.62	
18:2n6	13.36 \pm 0.54 ^a	11.11 \pm 0.36 ^b	10.57 \pm 0.11 ^b	8.33 \pm 0.11 ^c	0.001
20:4n6	5.30 \pm 1.0 ^a	1.91 \pm 0.30 ^b	4.29 \pm 0.52 ^a	1.76 \pm 0.47 ^b	0.001
Σ PUFAn6	18.67	13.01	14.87	10.09	
18:3n3	0.65 \pm 0.18	0.57 \pm 0.13	0.55 \pm 0.26	0.60 \pm 0.05	0.887
20:3n3	3.45 \pm 1.04 ^a	1.22 \pm 0.16 ^{bc}	2.25 \pm 0.14 ^b	0.99 \pm 0.32 ^c	0.001
20:5n3	1.94 \pm 0.26 ^{ab}	1.66 \pm 0.10 ^b	2.14 \pm 0.19 ^a	2.28 \pm 0.12 ^a	0.005
22:6n3	11.44 \pm 1.10 ^b	10.04 \pm 0.18 ^c	11.44 \pm 0.44 ^b	12.67 \pm 0.15 ^a	0.001
Σ PUFAn3	17.49	13.5	16.39	16.56	
Σ PUFA	36.16	26.51	31.26	26.65	
Otros	3.75 \pm 0.03	3.34 \pm 0.16	3.37 \pm 0.35	3.49 \pm 0.30	0.232

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes (^{a,b,c}), indican diferencias estadísticas significativas entre las dietas experimentales, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

6.6. Química sanguínea

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en todos los parámetros hematológicos con la inclusión de HB entre las diferentes dietas (Cuadro VIII). Las concentraciones más altas de proteína y glucosa se registraron en la dieta BB (7.16 ± 0.06 y 17.74 ± 2.67 , respectivamente), mientras que en la dieta MB se encontró la concentración más baja de proteína (4.18 ± 0.75) y de glucosa en la dieta control (9.78 ± 0.33).

Por otro lado, la dieta AB presentó los valores más altos de colesterol (40.8 ± 4.43) y triglicéridos (29.52 ± 1.88) y los más bajos en la dieta control (7.7 ± 0.7 y 8.8 ± 0.2 , respectivamente)

Cuadro VIII. Parámetros de la química sanguínea de *Litopenaeus vannamei* alimentados durante 54 días con dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de harina de subproductos bovinos (media \pm de).

Tratamiento	Parámetros				Valor P
	Control	BB	MB	AB	
Proteína (g dL ⁻¹)	7.03 ± 0.34^a	7.16 ± 0.06^a	4.18 ± 0.75^b	5.98 ± 0.59^{ab}	0.001
Glucosa (mg dL ⁻¹)	9.78 ± 0.33^b	17.74 ± 2.67^a	10.57 ± 1.88^b	14.55 ± 1.10^{ab}	0.009
Colesterol (mg dL ⁻¹)	7.71 ± 0.72^b	9.39 ± 2.04^b	19.91 ± 8.38^b	40.80 ± 4.43^a	0.001
Triglicéridos (mg dL ⁻¹)	8.77 ± 0.23^b	11.82 ± 0.52^b	11.17 ± 2.04^b	29.52 ± 1.88^a	0.001

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes (^{a,b,c}), indican diferencias estadísticas significativas entre las dietas experimentales, según la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

7. Discusión

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la sustitución parcial a total de la HSA por HB en una dieta en donde la HSA participa con cerca de un 50% de la proteína. Con los resultados obtenidos se pueden observar diferencias significativas entre tratamientos, demostrando que la HB puede reemplazar la HSA mejorando el rendimiento productivo general en alimentos acuícolas para camarones. Como se mencionó anteriormente, la proteína en las dietas tenía un nivel fijo de 20% de harina de soya, por lo que este trabajo logró reemplazar el 30% de la HSA contenido en la dieta, constituyendo el 48% de la proteína, bajo un esquema de dieta sin harina de pescado. Diversos estudios han demostrado la efectividad de la HSA como una fuente alternativa para las dietas en acuicultura, y en particular para camarones, en donde incluso puede reemplazar completamente la HP (Shapawi *et al.*, 2007; Markey *et al.*, 2010; Badillo *et al.*, 2016; Hossain *et al.*, 2017; Manríquez-Patiño *et al.*, 2022).

Los resultados obtenidos en este trabajo son importantes, ya que permiten tener un mejor panorama sobre que otras fuentes alternativas de subproductos terrestres están disponibles, y así contribuir en la reducción de los costos del alimento sin comprometer el rendimiento productivo de los camarones. La HB tiene un buen mercado y su precio es casi de una tercera parte de la de HSA y quizás hasta un 25% de la harina de pescado (CONAFAB, 2021), por lo que esta combinación representa una importante alternativa.

Kader *et al.* (2011) reportaron que se puede sustituir hasta el 67% de concentrado de proteína cruda con HB en dietas para *Pangasius hypophthalmus* sin afectar el crecimiento o tener efectos adversos en la salud del organismo.

En este estudio se logró reemplazar hasta el 30% de HSA con un 40% de HB sin tener algún efecto negativo mejorando el rendimiento significativamente ($P < 0.05$). Los mejores rendimientos se obtuvieron con el nivel más alto de inclusión de HB funcionando mejor que

los del grupo CONTROL. Esto sugiere que la HB tiene características nutricionales similares o mejores que la HSA lo que puede satisfacer las necesidades nutricionales en el camarón (Forster *et al.*, 2003; Tan *et al.*, 2005; Cruz-Suárez *et al.*, 2007; Ye *et al.*, 2011). En cuanto al crecimiento, se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$) respecto al tratamiento CONTROL en la ganancia de peso, tasa de crecimiento específica (TCE), tasa de coeficiente térmica (TCT) y el factor de conversión alimenticia (FCA).

Se ha demostrado que la HSA puede reemplazar a la harina de pescado sin reducir los parámetros productivos, por lo que entonces se infiere que la HB también podría ser una alternativa y reemplazar a la HP sin observar efectos adversos en algún indicador de rendimiento o salud (Hernández *et al.*, 2004; Cruz-Suárez *et al.*, 2007, Guo *et al.*, 2007). Smith *et al.* (2000) demostraron la factibilidad en el uso de HB para reemplazar hasta la mitad de proteína cruda proveniente de la HP en dietas para *Penaeus monodon* sin afectar el desempeño biológico de la especie.

Se han investigado otras fuentes proteicas alternativas para reemplazar la HP, sin embargo, se han presentado algunas limitantes debido a que algunas de esas fuentes presentan una baja digestibilidad (Hernández *et al.*, 2010). Se ha reportado que la digestibilidad de harinas de subproductos terrestres con diferente origen suele ser más baja que la de HP. Esto se ha atribuido a la composición y la calidad del material (alto contenido de fibra y/o cenizas) (Lee y Lawrence, 1997; Williams *et al.*, 1997; Bureau *et al.*, 1999) e incluso el proceso de elaboración de estas, por lo que la calidad del producto utilizado podría ser el responsable de las diferencias obtenidas. La calidad del proceso de renderización podría estar asociada a la frescura del producto, tiempo y temperatura del secado, dando como consecuencia una baja disponibilidad de ciertos aminoácidos (Bureau *et al.*, 1999). La HB utilizada aquí proviene de los EE. UU., en donde la NARA por sus siglas en inglés (North American Renderers Association), regula que los productores utilicen un proceso de calidad certificado. En este trabajo se observó que la tasa de crecimiento específico y el factor de conversión alimenticia

dieron como resultado diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto al grupo CONTROL. Además del contenido de proteína, que, en conjunto con los ácidos grasos utilizados como energía, pueden desempeñar un papel esencial en el efecto de ahorro proteico.

En este estudio, la digestibilidad aparente fue significativamente mejor ($P < 0.05$) en las dietas que tenían inclusión de HB. La dieta control obtuvo un 86%, mientras que las dietas que contenían HB un 91% de digestibilidad aparente considerando el alto contenido de cenizas. Otros autores han reportado que un alto contenido de cenizas en las dietas pudiera afectar la digestibilidad aparente de la materia seca. Ocasionando bajos crecimientos en algunas especies debido a que las cenizas podrían estar interfiriendo en la absorción de nutrientes, o bien, en el tiempo de paso de los nutrientes en el tracto intestinal (Church y Pond, 1998).

Sin embargo, en este trabajo al estar registrando un mayor crecimiento con los niveles más altos de ceniza, parecería no tener un efecto negativo, Si bien Gaylord y Gatlin (1996) mencionan que la calidad de las harinas de subproductos de origen animal puede variar dependiendo de la cantidad y calidad de los diferentes productos de desechos que la conforman, como se mencionó anteriormente, las harinas aquí empleadas son procedentes de los EE. UU. con un estricto control de calidad. No obstante, el contenido de cenizas es alto, lo cual puede verse aquí que no impactó negativamente el desempeño de los organismos. La HB proviene de subproductos de carne y huesos los cuales contienen una alta cantidad de colágeno que es convertido en gelatina (Sweers *et al.*, 2022), lo que seguramente le confiere una alta digestibilidad y propiedades nutritivas. Según GME (2020), se presume que la piel y huesos pueden contener hasta un 29.4% de gelatina.

Por tanto, la HB beneficia al crecimiento de los camarones por su alta digestibilidad y probablemente por el perfil de aminoácidos de la carne bovina. Además, luego de aplicar la regresión polinomial (cuadrática) entre los niveles de inclusión de HB en las dietas, se

observó una alta correlación positiva ($R_2= 0.986$) que se refleja en una mejor tasa de crecimiento específico y factor de conversión alimenticia.

No obstante, un alto contenido de cenizas podría afectar negativamente la estabilidad del agua en la dieta, sin embargo, considerando que el tratamiento AB presentó un mejor factor de conversión alimenticia, no se puede especular sobre la estabilidad de la dieta.

Por la respuesta favorable obtenida de los alimentos con altos porcentajes de inclusión de HB en los camarones, se infiere que se debe a la alta calidad de los nutrientes, contrario a trabajos anteriores sobre camarones y algunas especies de peces que fueron alimentados con HB (Millamena, 2002; Tan *et al.*, 2005; Hossain *et al.*, 2017) en donde los autores concluyeron que podría deberse al contenido de ácidos grasos. En este trabajo se utilizó DHA y EPA de microalgas para sustituir los contenidos de HP o de aceite de pescado, además del colesterol. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) son esenciales para el crecimiento de los camarones, así que cuando no hay suministro de estos mismos, el crecimiento se ve comprometido (Araújo *et al.*, 2019). Especialmente, el ácido docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) son esenciales en el contenido de las dietas para camarones. Estos LC-PUFA se encuentran disponibles en subproductos marinos (Turchini *et al.*, 2009; Araújo *et al.*, 2019).

Araújo *et al.* (2019) concluyeron que la combinación de sebo de res con aceite de microalgas (rico en DHA y EPA) resultó en un mejor rendimiento que el uso de aceite de pescado en dietas para camarón. Además, esta combinación resulta en una rica fuente de ácidos grasos esenciales para el organismo lo que termina en una combinación más económica y asequible para la elaboración de dietas reemplazando el aceite de pescado. El sebo de res demostró contener un bajo nivel de ácido linoleico, asociado a problemas inmunológicos, es decir, un elevado nivel de este ácido graso resulta en un proceso inflamatorio que pone en aprietos al sistema inmune (Zhu *et al.*, 2023). Por tanto, la grasa de

bovino contenida en la HB presenta características positivas para el desempeño y utilización de energía.

Las dietas utilizadas en el presente estudio fueron formuladas con DHA (50 g Kg^{-1} , MS), y se observó que los porcentajes de AG en el hepatopáncreas son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) tanto en ARA (C20:4n-6), EPA (C20:5n-3) y DHA (C22:6n-3) entre los tratamientos. Además, la acumulación de LC-PUFA aumentó, lo que se correlaciona directamente con la inclusión de DHA, lo que indica que la acumulación selectiva tiene un papel esencial en la eficiencia de utilización de los PUFAs. Respecto al resto del contenido de ácidos grasos cabe destacar la importante reducción de los ácidos grasos n6, en particular del ácido linoleico, reflejando su menor contenido en la HB encontrando diferencias significativas ($P < 0.05$). Como se mencionó anteriormente, el ácido linoleico se asocia a un proceso inflamatorio cuando se suministra en grandes cantidades, por lo que la inclusión de HB en dietas para camarón puede contribuir a la salud general del organismo.

El contenido total de colesterol y triglicéridos en la hemolinfa en el tratamiento AB fue mayor, sin embargo, los demás tratamientos se encuentran dentro del rango esperado para camarones sanos y libres de estrés (Mercier *et al.*, 2006). Es razonable encontrar un aumento en los valores de hemolinfa en la dieta AB, debido a que fue la dieta que mostro el mejor comportamiento en cuanto a ganancia de peso, tasa de crecimiento específico, digestibilidad, entre otros. Por lo que, el uso de parámetros sanguíneos permite reconocer y evaluar el estado de salud de un organismo cuando se enfrenta a cambios nutricionales (Lu *et al.*, 2020). Esos autores reportaron que, bajo condiciones de estrés, el nivel de colesterol en la hemolinfa podría reducirse de 21.1 a 17.1 mg/dL, aún no hay evidencia de que 40.8 mg/dL como se registró en los camarones alimentados con la dieta AB podría resultar en cambios fisiológicos para el organismo. Por otro lado, los camarones no pueden sintetizar el colesterol, por lo que el nivel en la hemolinfa podría controlarse.

8. Conclusiones

Los resultados de este trabajo indican que *Litopenaeus vannamei* puede alimentarse con dietas elaboradas formuladas hasta con un 50% de la proteína con HB ya que presenta una buena capacidad para digerir y utilizar esta fuente proteica sin afectar el rendimiento del crecimiento y salud en dietas libres de HP. Además, se observó que la inclusión de HB en las dietas mejoró los porcentajes de digestibilidad aparente superando los rendimientos productivos con HSA. Por lo que se concluye que la HB es una fuente de proteína con una alta posibilidad de ser incluida en dietas para camarones mostrando mejores beneficios en cuanto a desempeño.

9. Recomendaciones

Se sugiere conocer más sobre el metabolismo lipídico de la HB utilizando la expresión génica para estimar cual es la causa de la alta cantidad de colesterol y triglicéridos libres en la hemolinfa.

Bibliografía

- AOAC, 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International. Volume 1. AOAC International, Arlington, VA. 771.
- Araújo, B.C., Mata-Sotres, J. A., Viana, M.T., Tinajero, A. yBraga, A., 2019. Fish oil-free diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: The effects of DHA-EPA supplementation on juvenile growth performance and muscle fatty acid profile. Aquaculture 511:734276.
- Badillo, D., Lazo, J.P., Herzka, S.Z. yViana, M.T. 2016. The effect of substituting fishmeal with poultry by-product meal in diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles. Aqua. Res. 47: 1778–1789.

- Balfagón, P.J. y Ramoneda, M. 2001. La encefalopatía espongiforme bovina: un problema de salud pública que genera alarma social. *Enfermedades Emergentes*. 3(2): 78-87.
- Barreto-Curiel, F., Focken, U., D'Abramo, L.R., Mata-Sotres, J. y Viana, M.T. (2019). Assessment of amino acid requirements for *Totoaba macdonaldi* at different levels of protein using stable isotopes and a non-digestible protein source as a filler. *Aquaculture*. 503: 550-561.
- Bureau, D.P. 2006. Rendered products in fish Aquaculture feeds in. In: Meeker, D. L. (ed). Essential rendering. National Renderers Association. 179-194. Kirby Lithographic Company. Arlington, Virginia.
- Bureau, D.P., Harris, A.M. y Cho, C.Y. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout. *Aquaculture*. 180: 345-358.
- Cabrera-Núñez, A., Daniel-Rentería, I., Martínez-Sánchez, C., Alarcón-Pulido, S., Rojas-Ronquillo, R. y Velázquez-Jiménez, S. 2018. Aprovechamiento de subproductos avícolas como fuente proteica en la elaboración de dietas para rumiantes. *Abanico Veterinario*. 8(2): 59-67.
- Castro-Gómez, P., Fontecha, J. y Rodríguez-Alcalá, L.M. 2014. A high-performance direct transmethylation method for total fatty acids assessment in biological and foodstuff samples. *Talanta*. 128: 518-223.
- Christie, W.C. 1993. Preparation of lipid extracts from tissues. En: W.W. Christie (ed.) *Advances in Lipid Methodology*, Second Edition. Ed., Oily Press, Dundee, Scotland. 195-213.
- Church, D.C. y Pond, W.G. 1998. *Basic animal nutrition and feeding*. Wiley. New York. 472.
- CONAFAB, 2021. Anuario estadístico. La Industria Alimentaria Animal de México. Consejo Nacional de Fabricantes de Alimentos Balanceados, A.C., México, 100.

- Cruz-Suárez, L.E., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., Scholz, U. y Ricque-Marie, D., 2007. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*. 272: 466–476.
- Dantagnan, P. 2019. Diversification of dietary protein and lipid sources for the development of fish production: the great challenge for its growth. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 23(6): 376-378.
- Del Río-Zaragoza, O.B., Cavalheiro-Araújo, B. y Viana, M.T. 2021. Health status evaluation of striped bass (*Morone saxatilis*) exposed to low temperature in sea cage culture during the grow-out. *Aquaculture Research*. 52: 2435-2445.
- FAO. 2006. Fisheries y Aquaculture – Programa de información de especies acuáticas *Penaeus vannamei* (Boone, 1931).
- FAO. 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sustentable. Roma. 250.
- FAO. 2020. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. La sostenibilidad en acción. Roma. 243.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 276: 497-507.
- Forster, I.P., Dominy, W., Obaldo, L. y Tacon, A.G.J. 2003. Rendered meat and bone meals as ingredients of diets for shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture* 219(1-4): 655-670.
- García, R.A. y Phillips, J.G. 2009. Physical distribution and characteristics of meat & bone meal protein. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 89(2): 329-336.

- Gasco, L., Gai., G., Maricchiolo, G., Genovese, L., Ragonese, S., Bottari, T. y Caruso, G. 2018. Fishmeal alternative protein sources for Aquaculture feeds. In: Feeds for the Aquaculture Sector. Current Situation and Alternative Sources. Springer Briefs in Molecular Science. Springer, Cham, Switzerland. 1-28.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R. y Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*. 38: 551-579.
- Gaylord, T.G. y Gatlin, D. 1996. Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*. 139(95): 303-314.
- GME, 2020. Gelatin overview. Gelatin Manufacturers of Europe. <http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm>.
- Gonzabay-Crespín, A.N., Vite-Cevallos, H.A., Garzón-Montealegre, V.J. y Quizhpe-Cordero, P.F. 2021. Análisis de la producción de camarón en el Ecuador para su exportación a la Unión Europea en el período 2015-2020. *Pol. Con.* 6(9): 1040-1058.
- González-Salas, R., Romero-Cruz, O., Valdivié-Navarro, M. y Ponce-Palafox, J.T. 2014. Los productos y subproductos vegetales, animales y agroindustriales: Una alternativa para la alimentación de la tilapia. *Revista Bio Ciencias*. 2(4): 240-251.
- Guo, J., Wang, Y. y Bureau, D.P., 2007. Inclusion of rendered animal ingredients as fishmeal substitutes in practical diets for cuneate drum, *Nibea miichthioides* (Chu, Lo et Wu). *Aquac. Nutr.* 13(2): 81-87.
- Han, D., Shan, X., Zhang, W., Chen, Y., Wang, Q., Li, Z., Zhang, G., Xu, P., Li, J., Xie, S., Mai, K., Tang, Q., y Silva, S.S.D. 2018. A revisit to fishmeal usage and associated consequences in Chinese Aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 10 (2): 493-507.

- Hernández, C., Olvera-Novoa, M.A., González-Rodríguez, B., Nieblas-Almada, A. y Vázquez-Ortiz, F. 2010. Evaluación de la factibilidad de utilización de subproductos de animales de rastro como ingredientes alternativos a la harina de pescado en dietas para camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *Avances en Acuicultura y Manejo Ambiental*. 2(1): 107-121.
- Hernández, C., Sarmiento-Pardo, J., González-Rodríguez, B., Abdo de la Parra, I. 2004. Replacement of fish meal with co-extruded wet tuna viscera and corn meal in diets for white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone). *Aquac. Res.* 36: 834–840.
- Hossain, MS, Kader, MA, Dey, T., Sony, NM, Bulbul, M., Koshio, S., 2017. Efecto de la alta inclusión de animales renderizados por-ingredientes del producto sobre el crecimiento, la digestibilidad y el rendimiento económico en la perca trepadora *Anabas testudineus*. *Aquac. Res.* 48(3): 931-940.
- Ingrosso, L., Novoa, B., Dalla-Valle, A.Z., Cardone, F., Aranguren, R., Sbriccoli, M., Bevivino, S., Iriti, M., Liu, Q., Vetrugno, V., Lu, M., Faoro, F., Ciappellano, S., Figueras, A. y Pocchiari, M. 2006. Scrapie infectivity is quickly cleared in tissues of orally-infected farmed fish. *BMC Veterinary Research*. 2(21): 1-7.
- Jones, S. W., Karpol, A., Friedman, S., Maru, B.T. y Tracy, B.P. 2020. Recent advances in single cell protein use as a feed ingredient in aquaculture. *Current Opinion in Biotechnology*. 61: 189-197.
- Kaparanagiotidis, I.T., Psoufakis, P., Mente, E., Malandrakis, E. y Golomazou, E. 2019. Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition*. 25(1): 3-14.

- Lee, P.G. y Lawrence, A.L. 1997. Digestibility. En: D´Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. Crustacean nutrition, advances in world Aquaculture. Vol. 6. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. 194-260.
- Li, E., Xu, C., Wang, X., Wang, S., Zhao, Q., Zhang, M., Qin, J.G. y Chen, L. 2018. Gut microbiota and its modulation for healthy farming of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Rev. Fisheries Science & Aquaculture. 26(3): 381-399.
- Lu, X., Peng, D., Chen, X., Wu, f., Jiang, M., Tian, J., Liu, W., Yu, L., Wen, H., Wei, K., 2020. Effects of dietary protein levels on growth, muscle composition, digestive enzymes activities, hemolymph biochemical indices and ovary development of pre-adult red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*). Aquaculture Reports. 18: 100542.
- Manríquez-Patiño, A., Paredes-Gutierrez, G., Skrzynska, AK, Tinajero, A., Mata-Sotres, JA, Araújo, BC, Viana, MT, 2022. Juvenil de Yellowtail, *Seriola dorsalis* alimentado con dietas de parcial a reemplazo total de aceite de pescado y harina de pescado. AquaTechnica. 3(3): 144-156.
- Markey, JC, Amaya, EA, Davis, DA, 2010. Sustitución de la harina de subproductos avícolas en las dietas de producción del camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*. J. Mundo Aquac. Soc. 41(6): 893-902.
- Mata-Sotres, J.A., Tinajero-Chávez, A., Barreto-Curiel, F., Pares-Sierra, G., Del Río-Zaragoza, O.B., Viana, M.T. y Rombenso, A.N. 2018. DHA (22:6n3) supplementation is valuable in Totoaba macdonaldi fish oil-free feeds containing poultry by-product meal and beef tallow. Aquaculture. 497: 440-451.
- McLean, E., Barrows, F., Craig, S., Alfrey, K. y Tran, L. 2020. Complete replacement of fishmeal by soybean and poultry meals in Pacific whiteleg shrimp feeds: Growth and tolerance to EMS/AHPND and WSSV challenge. Aquaculture. 527: 735383.

- Meeker, D.L. y Hamilton, C.R. 2006. An overview of the rendering industry. In: Essential rendering: All About The Animal By-Products Industry. National Renderers Association. Arlington, Virginia. 1-16.
- Mercier, L., Palacios, E., Campa-Córdova, Á. I., Tovar-Ramírez, D., Hernández-Herrera, R., Racotta, I. S., 2006. Metabolic and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. *Aquaculture* 258(1-4), 633-640.
- Millamena, O.M. 2002. Replacement of fish meal by animal by-products meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*. 204(1-2): 75-84.
- Montaño-Vargas, J., Shimada, A., Vásquez, C., y Viana, M.T. 2002. Methods of measuring feed digestibility in the green abalone (*Haliotis fulgens*). *Aquaculture*. 213 (1-4): 339-346.
- Moutinho, S., Peres, H., Serra, C., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Jover-Cerdá, M. y Oliva-Teles, A. 2017. Meat and bone meal as partial replacement of fishmeal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles: Diets digestibility, digestive function and microbiota modulation. *Aquaculture*. 479: 721-731.
- National Research Council (NRC). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. 2011. Editorial National Academics Press, Washington, D.C., U.S.A. 392 pp.
- Parés-Sierra, G., Durazo, E., Ponce, M.A., Badillo, D., Correa-Reyes, G. y Viana, M.T. 2014. Partial to total replacement of fishmeal by poultry by-product meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their effect on fatty acids from muscle tissue and the time required to retrieve the effect. *Aquaculture Research*. 45(9): 1459-1469.

- Parrish, C.C., Nichols, P.D., Pethybridge, H., Young, J.W. 2014. Direct determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top predator trophic connections. *Methods*. 177: 85-95.
- Pérez-Velázquez, M., Cañedo-Orihuela, H., Félix-Berumen, R.D. y González-Félix, M.L. 2023. Harina de larva de mosca soldado negro y de organismos unicelulares como alternativas proteicas para alimentos acuicolas. *Epistemus (Sonora)*. 17(34): 77-84.
- Pintor, I., Mata-Sotres, J.A., Rodríguez-Hernández, A., Del Río-Zaragoza, O.B., Viana, M.T. y Vázquez-Duhalt, R. 2022. Ingestion effect of polyethylene terephthalate (PET) nanoparticles on juveniles of shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Applied Ecology and Environmental Sciences*. 10(3): 113-121.
- Rocker, M.M., Lewis, M.J., Mock, T.S., Francis, D.S., Bellagamba, F., Moretti, V.M., Quinn, G.P., Smullen, R.P. y Turchini, G.M. 2021. Poultry offal meal production conditions impact meal quality and digestibility in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 542: 736909.
- Sabbagh, M., Schlavone, R., Brizzi, G., Sicuro, B., Zill, L. y Villela, S. (2019). Poultry by-product meal as an alternative to fish meal in the juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) diet. *Aquaculture*. 511: 734220.
- Shapawi, R., Ng, W.K. y Mustafa, S., 2007. Sustitución de harina de pescado por harina de subproductos avícolas en dietas formuladas para el mero jorobado, *Cromileptes altivelis*. *Acuicultura* 273(1): 118-126.
- Siccardi III, A.J., Lawrence, A.L., Gatlin III, D.M., Fox, J.M., Castille, F.L., Perez-Velazquez, M. y González-Félix, M.L., 2006. Digestibilidad aparente de energía, proteína y materia seca de ingredientes utilizados en alimentos balanceados para el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Avances en Nutrición Acuicola*. 213-237.

- Sitjá-Bobadilla, A., Peña-Llopis, S., Gómez-Requeni, P., Médale, F., Kaushik, S. y Pérez-Sánchez, J. 2005. Effect of fish meal replacement by plant protein sources on nonspecific defense mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 249: 387-400.
- Skovgaard, N. 2012. Bovine spongiform encephalitis: the case of an unexpected and rapidly spreading epidemic in cattle with serious consequences. *Case Studies in Food Safety and Authenticity*. 206-214.
- Suárez, J.A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., García, G., Alanis, G. y Cuzón, G. 2009. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy Budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*. 289: 118-123.
- Suloma, A., Mabroke, R.S. y El-Haroum, E.R. 2013. Meat and bone meal as a potential source of phosphorus in plant-protein-based diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture International*. 21: 375-385.
- Sweers, L.J.H., Politiek, R.G.A., Lekemond, C.M.M., Bruins, M.E., Boom, R.M., Fogliano, V., Mishyna, M., Keppler, J.K. y Schutyser, M.A.I., 2022. Dry Fractionation for protein enrichment of animal by-products and insects: A review. *J. Food Eng.* 313: 110759.
- Tacón, A.G. 2020. Trends in global aquaculture and aquafeed production: 2000-2017. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 28(1): 43-56.
- Tan, B., Mai, K., Zheng, S., Zhou, Q., Liu, L. y Yu, Y., 2005. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquac. Res.* 36(5): 439-444.
- Taylor, D.M., Woodgate, S.L., y Atkinson, M.J. 1995. Inactivation of the Bovine Spongiform Encephalopathy Agent by Rendering Procedures. *Veterinary Record*. 137:605610.

- Tejada de Hernández, I. 1992. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. Sistema de Educación Continua en Producción Animal. 397.
- Volpato, J.A., Ribeiro, L.B., Torezan, G.B., da Silva, I.C., Oliveira-Martins., I., Genova, J.L., Escocard de Oliveira, N.T., Carvalho, S.T., de Oliveira Carvalho, P.L., y Souza Vasconcellos, R. 2022. Characterization of the variations in the industrial processing and nutritional variables of poultry by-product meal. *Aquaculture*. 101(7): 101926.
- Wei, Z., Kangsen, M., Baigang, Z., Yangjiang, H. y Yu, Y. 2006. A study on the meat and bone meal or poultry by-product meal as protein substitutes of fishmeal in concentrated diets for *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Ocean University of China*. 5: 63-66.
- Williams, K.C. Allan, G.L., Smith, D.M. y Barlow, C.G. 1997. Fish meal replacement in Aquaculture diets using rendered protein meals. En: Banks G. Proceedings of the 4th International Symposium of Australian Renderers Association, Australian Renderers Association, Sydney, Australia. 13-26.
- Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D., Sun, Y.Z. y Liu, X.H., 2011. Incorporation of a mixture of meat and bone meal, poultry by-product meal, blood meal and corn gluten meal as a replacement for fish meal in practical diets of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two dietary protein levels. *Aquac. Nutr.* 17(2): 337-347.
- Zhu, W., Dong, R., Ge, L., Yang, Q., Lu, N., Li, H. y Feng, Z. 2023. Effects of dietary n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) composition on growth performances and non-specific immunity in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*. 28: 101436.