

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1 Unidad Experimental

Un experimento de 10 semanas de duración se llevó a cabo en la Universidad de Sonora en las instalaciones de la Unidad Experimental Kino (UEK) del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS).

Éste se realizó en tinas de plástico con capacidad de 4.2 m³, a las cuales se les agregó tierra como sedimento para simular las condiciones de estanques camaronícolas. (Figura 1 y 2).

En el sistema de cultivo se trabajó con una tasa de recambio de agua de alrededor del 10% diario.

III.2 Organismos Experimentales

Se obtuvieron postlarvas 20 (PL-20) del laboratorio comercial “Maricultura del Pacífico S.A. de C.V.”, las cuales fueron transportadas en bolsas de plástico en condiciones de 25‰ de salinidad y temperatura de 25°C. Estas postlarvas fueron engordadas previamente al experimento hasta una talla de 1.5 gramos utilizando un alimento comercial balanceado con 40% de proteína.

Una vez alcanzada la talla deseada, se llevó a cabo una distribución de tallas y se eligió un rango de peso inicial de organismos (1.2 a 1.8 gramos) que formarían parte del experimento.

Ya obtenidos los organismos, se asignaron al azar a los diferentes tratamientos, sembrándose a una densidad de 9 organismos/m².



Figura 1. Sistema experimental de la Unidad Experimental Kino, Bahía Kino, Sonora.

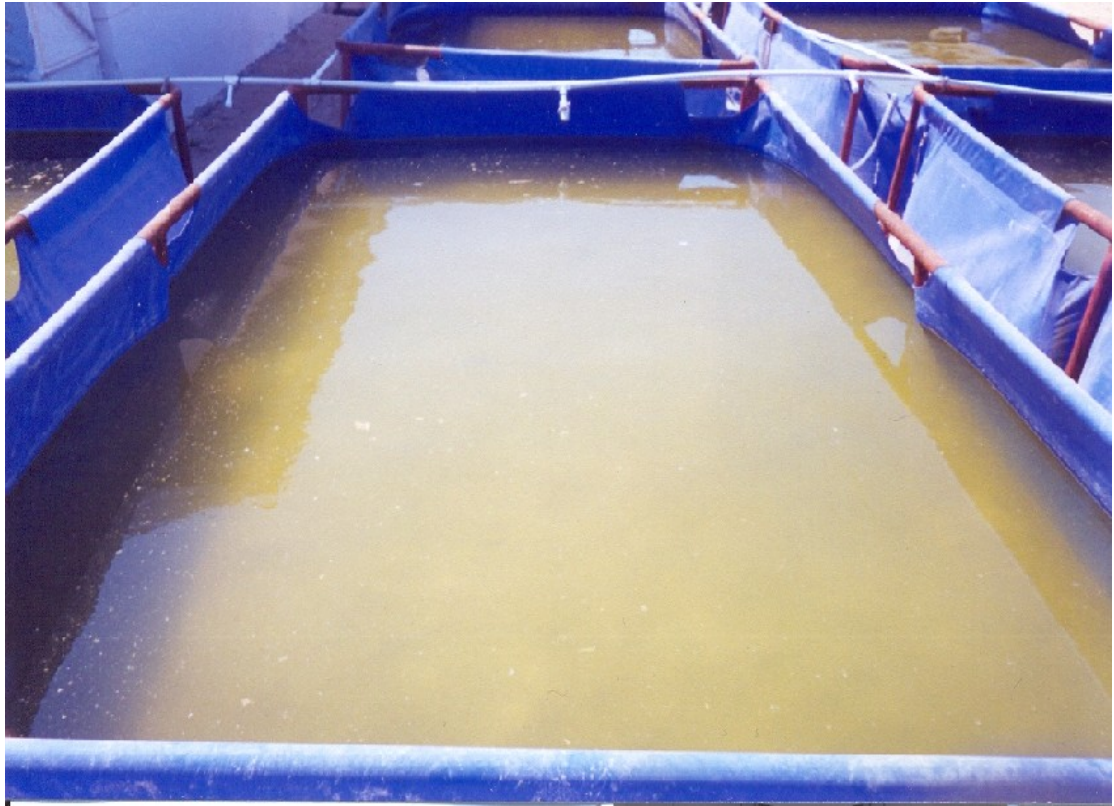


Figura 2. Detalle de las tinas de plástico de 4.2 m³ utilizadas para el experimento con *Litopenaeus vannamei*.

III.3 Dietas y Tratamientos Experimentales

Se elaboraron tres dietas experimentales con las siguientes proporciones de proteína y energía: 30% proteína y 4,500 cal·g⁻¹; 35% proteína y 4,500 cal·g⁻¹; y 35% proteína y 4,000 cal·g⁻¹, con las cuales se originaron los tratamientos experimentales de proporción P/E 66.7 mgP·kcal⁻¹, 77.8 mgP·kcal⁻¹ y 88.5 mgP·kcal⁻¹, respectivamente, tal como se muestra en la Tabla I. En lo sucesivo, dichos tratamientos serán referidos en el texto como tratamientos 66.7, 77.8 y 88.5, respectivamente.

Las dietas fueron sometidas a un análisis químico proximal para corroborar que las proporciones de los nutrientes correspondieran a las de la formulación. Las determinaciones se llevaron a cabo con base en los métodos oficiales de la AOAC (1999).

Para la determinación de proteína se utilizó el método microkjeldahl, basado en una digestión ácida (AOAC: 954.01).

La determinación de fibra cruda se llevó a cabo midiendo tomando en cuenta la pérdida de peso por incineración de un residuo orgánico que quedó después de una digestión de la muestra con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio diluidos (AOAC: 989.03).

Los carbohidratos fueron obtenidos mediante la resta del extracto libre de nitrógeno total, menos el contenido de fibra cruda presente en la dieta.

El contenido de grasa fue obtenido utilizando el método Soxhlet el cual consiste en la extracción de la grasa presente en la muestra con éter etílico (AOAC: 920.39).

La energía total contenida en el alimento fue determinada empleando un calorímetro en donde la combustión de la muestra aumentaba la temperatura de un cierto volumen de agua.

La composición química proximal de las dietas y el contenido de energía, así como la proporción P/E se muestran en la Tabla II.

Los tratamientos fueron asignados al azar a tres tinas de plástico cada uno (Figura 2).

El alimento se suministró en bandejas y se ajustó la ración diaria con respecto al consumo aparente (Salame, 1993) de la siguiente manera:

Si el alimento era consumido totalmente	Se aumentaba la ración en 10%
Si había un excedente de 5%	No se modificaba la ración
Si hay un excedente de 10%	Se disminuía la ración en 10%
Si había un excedente de más de 20%	Suspender la alimentación y reiniciar al día siguiente

Se monitorearon diariamente parámetros fisicoquímicos tales como oxígeno disuelto, pH, temperatura y salinidad. El oxígeno disuelto y la temperatura, se midieron utilizando un oxímetro (YSI 57 D.O. Meter E-DO-YS-57-MTR, USA). Para la salinidad se utilizó un refractómetro Westover Modelo RHS-10-AT, Westover Co. USA. El pH fue medido con un potenciómetro (YSI Model 32 Conductance Meter, USA).

Tabla I. Composición de ingredientes, contenido de proteína, energía y proporción P/E de las dietas utilizadas.

Ingrediente	Tratamiento Proporción P/E(mgP kcal ⁻¹)		
	66.7	77.8	88.5
	% del peso seco	% del peso seco	% del peso seco
Almidón de trigo	12.00	14.00	9.50
Harina de Pescado	35.00	40.00	22.00
Harina de Soya	10.00	17.00	15.00
Sorgo	28.20	14.91	25.00
Harina de Sangre	0	0	14.20
Aceite de Pescado	2.00	2.00	2.50
Aceite de Soya	3.00	2.29	2.50
Lecitina de Soya	3.00	3.00	2.50
Prem, Vitaminas	0.50	0.50	0.50
Vit C estable	0.30	0.30	0.30
Premezcla de Minerales	2.00	2.00	2.00
Alginato	4.00	4.00	4.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00
Energía Total	4614.11	4648.00	4090.76
(kcal·kg ⁻¹)			
Energía Digerible(kcal·kg ⁻¹)	3638.09	3694.24	3181.32
Proteína Cruda (%)	30.11	35.18	35.28
Fibra (%)	4.71	4.66	4.94
Grasa Total (%)	11.66	11.09	10.13
Materia Seca (%)	92.18	92.34	91.56

Tabla II. Composición química proximal, proporción P/E ($\text{mgP}\cdot\text{kcal}^{-1}$) y contenido de energía de las dietas experimentales.

Componente	Composición proximal (% en materia seca)		
	66.7	77.8	88.5
Ceniza	9.6	10.8	9.6
Proteína	29.4	34.5	34.3
Grasa	12.1	12.5	11.3
Fibra Cruda	4.7	4.6	5.0
P/E	65.9	76.4	83.5
Energía Total ($\text{kcal}\cdot\text{kg}^{-1}$)	4458.7	4520.3	4100.7
Humedad del pellet	4.4	5.2	5.4

*Valores promedio de tres réplicas

III.4 Calidad de Agua

Semanalmente fueron medidos parámetros de calidad de agua tales como nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y fosfatos. Para ello se utilizaron las técnicas impresas en el manual HACH DR/4009, aprobadas por la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (USEPA).

III.4.1 Nitrógeno Amoniacal

El amoníaco fue medido mediante una reacción de 25 mL de muestra con el reactivo Salicilato de Amonio. Posteriormente se procedió a agitar y después de un período de 3 minutos se agregó un segundo reactivo (Cianurato de Amonio), se volvió a agitar la muestra y se dejó reposar nuevamente por 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo necesario, se formó un complejo colorimétrico y se midió en un espectrofotómetro (HACH) a una longitud de onda de 655nm. La intensidad de color fue proporcional a la concentración de amoníaco presente en la muestra, tomando como blanco 25 mL de agua destilada y agregando los mismos reactivos que a la muestra.

III.4.2 Nitritos

La concentración de nitritos fue medida como nitrógeno total de NO_2 . Para ello, a 10 mL de muestra se le agregó el reactivo Nitra Ver 3. Posteriormente se agitó y se dejó reposar. Después de una reacción de 20 minutos se formó un color rosa cuya intensidad era directamente proporcional a la concentración de nitritos presente en la muestra.

Después de llevada a cabo la reacción, la intensidad de color fue medida en HACH a una longitud de onda de 507 nm. Para que el espectrofotómetro ajustara al curva de calibración se tomaron 10 mL de la misma muestra sin reactivo, la cual se colocó en el aparato y se ajustó la medición a cero.

III.4.3 Nitratos

Para determinar el contenido de éste compuesto se agregó el reactivo NitraVer 5 a 10 mL de muestra. Se agitó y se esperó un período de reacción de 5 minutos. Una vez transcurrido el tiempo indicado se procedió a leer en el HACH a una longitud de onda de 500 nm, tomando como blanco 10 mL de la muestra sin reactivo.

III.4.4 Fosfatos

La concentración de fosfatos fue determinada mediante una reacción colorimétrica del ácido ascórbico con los fosfatos presentes en la muestra.

A 10 mL de muestra se le agregó el reactivo PhosVer 3 y se agitó inmediatamente. Se dejó reposar la muestra con reactivo durante 2 minutos. Una vez transcurrido el período de reacción se procedió a leer la muestra a una longitud de onda de 890 nm. Se tomo como blanco una cantidad de 10 mL de la misma muestra, pero esta sin reactivo.

III.5 Parámetros de producción

Semanalmente se llevaron a cabo biometrías de cada tratamiento para observar el desarrollo de los organismos con respecto al tiempo. El peso fue determinado tomando 10 organismos de cada tina y pesándolos individualmente en una balanza digital Sartorius (modelo Ea3 Dcei, Alemania), con una precisión de 0.1 g. Se determinó el peso promedio y la desviación estándar.

Al finalizar el período experimental fueron medidos los parámetros de producción peso final (PF), peso ganado (PG), porcentaje de peso ganado (%PG), factor de conversión alimenticia (FCA), tasa instantánea de crecimiento (TIC) y supervivencia.

III.5.1 Peso final

Los organismos de cada tratamiento fueron pesados al final del experimento, dividiendo el peso de éstos entre el número de organismos pesados.

$$PG = P.final - P.inicial$$

III.5.2 Peso ganado

El valor de peso ganado se obtuvo mediante la resta del peso final menos el peso inicial de los organismos.

III.5.3 Porcentaje de crecimiento

Para obtener el porcentaje de crecimiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{(PG)(100)}{P.Inicial} = \%PesoGanado$$

III.5.4 Factor de conversión alimenticia

El FCA fue medido mediante la siguiente fórmula:

$$FCA = \frac{Peso.AS.}{Días.de.Tratamiento}$$

- AS: Alimento suministrado.

III.5.5 Tasa instantánea de crecimiento

$$TIC = \frac{\left[\ln \left(\frac{P.Final}{P.Inicial} \right) \right] (100)}{Días.de.Tratamiento}$$

III.5.6 Supervivencia

La supervivencia se obtuvo mediante la siguiente fórmula.

$$Supervivencia = \frac{(\text{No. de organismos al final del experimento})(100)}{\text{No. de organismos al inicio del experimento}}$$

III.6 Análisis Estadístico

Para determinar la normalidad de y homogeneidad de los datos se utilizó la prueba estadística de Bartlett. Los datos presentaron una distribución normal y varianzas homogéneas a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Se utilizó una prueba estadística ANOVA de una sola vía en donde la proporción Proteína/Energía de cada dieta se tomó como variable independiente y los parámetros fisicoquímicos, calidad de agua (nitritos, nitratos y amoníaco) y parámetros de producción como variables dependientes.

Las diferencias significativas fueron identificadas mediante un análisis de Duncan.

Los datos de supervivencia fueron transformados mediante la aplicación de arcoseno para normalizarlos antes de ser sometidos a análisis estadístico.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el uso del programa de computadora Statistica. 6.0, Statsoft, USA.