



UNIVERSIDAD DE CHILE

MAGISTER EN CIENCIAS DE LA ACUICULTURA

DIGESTIBILIDAD DE GRANO DE LUPINO (*Lupinus albus*), GRANO DE ARVEJA (*Pisum sativum*) Y TORTA DE RAPS (*Brassica napus*), Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO, EFICIENCIA DEL ALIMENTO Y COMPOSICIÓN DE LA CARCASA EN JUVENILES DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*).

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magister en Ciencias de la Acuicultura.

DAVID RAMIRO ROMÁN RAMÍREZ

Directores de tesis
SUSANA MUÑOZ MIMIZA
ADRIÁN HERNÁNDEZ ARIAS

SANTIAGO - CHILE
2016



UNIVERSIDAD DE CHILE

MAGISTER EN CIENCIAS DE LA ACUICULTURA

DIGESTIBILIDAD DE GRANO DE LUPINO (*Lupinus albus*), GRANO DE ARVEJA (*Pisum sativum*) Y TORTA DE RAPS (*Brassica napus*), Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO, EFICIENCIA DEL ALIMENTO Y COMPOSICIÓN DE LA CARCASA EN JUVENILES DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*).

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magister en Ciencias de la Acuicultura.

DAVID RAMIRO ROMÁN RAMÍREZ

Directores de tesis
SUSANA MUÑOZ MIMIZA
ADRIÁN HERNÁNDEZ ARIAS

Profesores evaluadores
CRISTIÁN ARANEDA
NELSON DIAZ

SANTIAGO - CHILE
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
MAGISTER EN CIENCIAS DE LA ACUICULTURA

DIGESTIBILIDAD DE GRANO DE LUPINO (*Lupinus albus*), GRANO DE ARVEJA (*Pisum sativum*) Y TORTA DE RAPS (*Brassica napus*), Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO, EFICIENCIA DEL ALIMENTO Y COMPOSICIÓN DE LA CARCASA EN JUVENILES DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*).

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias de la Acuicultura.

DAVID RAMIRO ROMÁN RAMÍREZ

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)	Firma
DIRECTORES DE TESIS			
Susana Muñoz M. Ingeniero Agrónomo, MS.	6,0	6,0	
Adrián Hernández A. Licenciado en Acuicultura, Ph.D.	6,0	6,0	
PROFESORES EVALUADORES			
Cristián Araneda T. Licenciado Cs. Biológicas, MS, Ph.D.	5,3	5,3	
Nelson Díaz P. Profesor Biología y Ciencias, Ph.D.	6,5	6,5	

Santiago, Chile
2016

AGRADECIMIENTOS

En la realización del presente proyecto de tesis de grado se agradece el patrocinio otorgado por el programa FONDECYT proyecto N° 11080201 y el soporte humano y técnico otorgado por la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco.

Agradezco a mis profesores evaluadores quienes fueron parte importante en mi etapa formativa.

Una mención especial para mis profesores directores de tesis. Susana Muñoz que genero el lazo académico para poder realizar mi tesis en la Universidad Católica de Temuco y su incondicional apoyo durante todo el proceso. Adrián Hernández quien además de ser un excelente jefe de proyecto otorgándome todos sus conocimientos, fue un gran amigo y consejero.

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por los padres a los que me encomendó, ya que gracias a Luis Román y Alicia Ramírez, hoy tengo herramientas para enfrentar el futuro. Sólo ruego a Dios, les brinde largos y dulces años, para que puedan disfrutar de los frutos de la hermosa vida que sembraron.

ϕ Padres, los quiero mucho y les estaré agradecido por siempre, por todo el esfuerzo y la dedicación entregada para lograr éste objetivo.

ϕ Gracias a Paula Santa María por estar siempre a mi lado, apoyándome y entregándome su comprensión, siendo parte fundamental de éste logro.

ϕ Gracias a mis hermanos, primos, compañeros y amigos, por darme las fuerzas necesarias para terminar el camino.

ϕ Finalmente, agradezco a mi hijo Nawel Román Santa María, quien con su dulzura, alegría y amor fue la principal motivación para terminar este camino y poder ser un aporte a la sociedad.

A todos ellos, gracias.

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Sistemas de estanques utilizados en ensayo de digestibilidad <i>in vivo</i>	9
2. Sistema de estanques y esquema del ensayo de crecimiento.....	14

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Formulación de dietas y composición proximal (%) de dietas e ingredientes experimentales, para el ensayo de digestibilidad.....	11
2. Formulación y composición proximal (%) de dietas experimentales para el ensayo de crecimiento.....	15
3. Composición proximal de heces colectadas en el ensayo de digestibilidad.....	20
4. Coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de los ingredientes experimentales evaluados en juveniles de trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	21
5. Composición de aminoácidos esenciales (AAE) de las dietas y requerimientos para trucha arcoíris.....	26
6. Comportamiento productivo y eficiencia del alimento en juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentados con diferentes niveles de inclusión de lupino (<i>Lupinus albus</i>).....	28
7. Comportamiento productivo y eficiencia del alimento en juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentados con diferentes niveles de inclusión de arveja (<i>Pisum sativum var. rocket</i>).....	30
8. Comportamiento productivo y eficiencia del alimento en juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentados con diferentes niveles de inclusión de torta de raps (<i>Brassica napus</i>).....	32
9. Composición proximal y perfil de minerales (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentados con distintos niveles de inclusión de lupino (<i>Lupinus albus</i>).....	35
10. Retención de N y P (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentadas con distintos niveles de inclusión de lupino (<i>Lupinus albus</i>).....	35
11. Composición proximal y perfil de minerales (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentados con distintos niveles de inclusión de arveja (<i>Pisum sativum</i>).....	38

12. Retención de N y P (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentadas con distintos niveles de inclusión torta de raps (<i>Pisum sativum var. rocket</i>).....	38
13. Composición proximal y perfil de minerales (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentados con distintos niveles inclusión de torta de raps (<i>Brassica napus</i>).....	40
14. Retención de N y P (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) alimentadas con distintos niveles de inclusión torta de raps (<i>Brassica napus</i>).....	41

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
INDICE DE FIGURAS.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	iv
INDICE DE CONTENIDO.....	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUCCION	1
1.1 Hipótesis	7
1.2 Objetivo general	7
1.3 Objetivo específico.....	7
2 MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1 Ensayo de digestibilidad.....	8
2.1.1 Condiciones experimentales	8
2.1.2 Dietas ensayo digestibilidad	10
2.1.3 Parámetros digestivos evaluados	12
2.1.3.1 Coeficientes de digestibilidad aparente	12
2.2 Ensayo de crecimiento.....	12
2.2.1 Condiciones experimentales	12
2.2.2 Dietas ensayo crecimiento	14
2.2.3 Parámetros productivos evaluados	16
2.2.3.1 Comportamiento productivo.....	16
2.2.3.2 Eficiencia de conversión del alimento.....	16
2.2.3.3 Factor de condición.....	16
2.2.3.4 Índice hepatoesomático	17
2.2.3.5 Razón de eficiencia proteica.....	17

2.3 Composición de la carcasa	17
2.3.1 Retención de N y P	17
2.4 Métodos Analíticos de composición química.....	18
2.4.1 Análisis proximal.....	18
2.4.2 Energía bruta.....	18
2.4.3 Análisis mineral	18
2.4.4 Oxido de cromo	18
2.4.5 Análisis de aminoácidos	18
2.5 Análisis estadístico	19
3 RESULTADOS Y DISCUSION.....	19
3.1 Coeficiente de digestibilidad aparente de ingredientes	19
3.2 Crecimiento y eficiencia de conversión del alimento.....	26
3.2.1 Lupino.....	27
3.2.2 Arveja	29
3.2.3 Torta de raps	32
3.3 Composición de la carcasa y retención de N y P.....	34
3.3.1 Lupino.....	34
3.3.2 Arveja	37
3.3.3 Torta de raps	39
4 CONCLUSIONES	44
5 BIBLIOGRAFIA	45

RESUMEN

La acuicultura ha experimentado un gran crecimiento, lo que conlleva una gran demanda por harina de pescado, principal ingrediente proteico en la alimentación de especies carnívoras. Este vital insumo es cada vez más escaso debido a la sobre explotación pesquera, haciéndolo el más costoso dentro de la ración, al mismo tiempo, está asociado con un importante exceso de nutrientes que representa un potencial contaminante de los recursos hídricos en los sistemas de cultivo. El uso de proteínas vegetales como alternativa, es crucial para el crecimiento sustentable del sector acuícola, orientando la investigación hacia el uso eficiente de este tipo de proteínas. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la digestibilidad de granos de lupino (*Lupinus albus*) y arveja (*Pisum sativum*) descascarados y torta de raps (*Brasica napus*), y en una segunda etapa, evaluar diferentes inclusiones sobre el crecimiento, eficiencia del alimento y composición de la carcasa en juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). El ensayo de digestibilidad *in vivo* se inició con truchas de $24,9 \pm 0,4$ g. las dietas se formularon en relación a una dieta de referencia con harina de pescado, donde se sustituyó un 30 % de la dieta referencia por los ingredientes a evaluar; en una segunda etapa se realizó un ensayo que duró 9 semanas con truchas de $37,1 \pm 3,6$ g, donde se evaluó el efecto de la inclusión de harinas de grano de lupino (15, 25, 35 %), grano de arveja (5, 15, 25 %) y torta de raps (10, 20, 30 %) sobre el comportamiento productivo y composición de la carcasa. El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de todos los nutrientes medidos fue significativamente mayor ($P < 0,05$) para torta de raps, el grano de arveja tuvo CDA proteína y EE sobrestimados, probablemente debido al error experimental (que se produce cuando el nutriente medido es muy bajo en el ingrediente). La baja digestibilidad de MS, ENN y energía se atribuyeron al estado crudo de los ingredientes y a la ausencia de metodologías de procesamiento en la elaboración de las dietas. Los resultados del ensayo de crecimiento fueron significativamente afectados ($P < 0,05$) tanto por el tipo de proteína vegetal como por su nivel de inclusión, parámetros productivos y eficiencia del alimento, fueron disminuyendo a medida que aumentaba el porcentaje de inclusión para cada ingrediente. La composición de la carcasa y la retención de N y P en peces alimentados con grano de lupino no muestran diferencias significativas ($P > 0,05$) con el tratamiento control. Los valores de MS, PC, EE y K de la carcasa en los peces alimentados con 25 % de inclusión de grano de arveja muestran ser significativamente menores que el tratamiento control y la retención de N y P de los tratamientos con 15 % y 25 % de inclusión fue menor que el control. Los peces que recibieron la torta de raps no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) con el control en la composición de la carcasa, pero la retención de N fue menor que el control en todas las inclusiones y de P fue menor para 20 y 30 % de inclusión. Por lo tanto, se puede concluir que la inclusión de harina de grano de lupino (*Lupinus albus*) hasta 250 g kg⁻¹ en dietas extruidas para juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) no afecta el comportamiento productivo, eficiencia del alimento y composición de la carcasa, lo cual lo convierte en un buen sustituto de la harina de pescado.

Palabras claves: Proteína vegetal; Harina de pescado; rendimiento productivo, composición de la carcasa.

ABSTRACT

Aquaculture has experienced tremendous growth, leading to a high demand for fishmeal, major protein ingredient in feed for carnivorous species. This vital input is the most expensive in the ration and is associated with a significant excess nutrient as potential contaminant of water resources in farming systems. The use of alternative proteins such as vegetable protein is crucial for sustainable growth of the aquaculture sector, orienting research towards the efficient use of this type of protein. In this context, this research aims to evaluate the digestibility of grains of lupine (*Lupinus albus*) and pea (*Pisum sativum*) hulled and cake raps (*Brassica napus*) and in a second stage, to evaluate different inclusions on growth, feed efficiency and carcass composition in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The *in vivo* digestibility trial began with trout of $24,9 \pm 0.4$ g diets were formulated in relation to a reference diet with fish meal, which was replaced 30 % of reference diet for the ingredients assessed; in a second stage a trial lasted 9 weeks with trout $37,1 \pm 3.6$ g where was evaluated the effect of the inclusion of lupine grain flours (15, 25, 35 %), pea grain (5, 15, 25 %) and rapeseed cake (10, 20, 30 %) on productive performance and carcass composition. The apparent digestibility coefficient (ADC) of all measured nutrients was significantly higher ($P < 0,05$) for cake raps, grain pea had CDA protein and EE overestimated, probably due to experimental error (which occurs when the measured nutrient is very low in the ingredient). The low digestibility of DM, EN and energy is attributed to the raw state of the ingredients and the absence of processing methodologies in developing diets. The test growth results were significantly affected ($P < 0,05$) by the type of plant protein and its level of inclusion, productive performance and feed efficiency were decreasing with increasing the percentage of inclusion for each ingredient. The composition and retention of N and P in the carcass of fish fed grain lupine show no significant difference ($P > 0,05$) with the control treatment. Values MS, PC, EE and K of the carcass in fish fed with 25% inclusion grain pea shown to be significantly lower than the control treatment and retention of N and P treatments with 15% and 25% inclusion was less than. The fish receiving cake raps had no significant differences ($P > 0.05$) with control in the composition of the carcass, but retention of N was lower than control in all inclusions and P was lower for 20 and 30% inclusion. Therefore, it can be concluded that the inclusion of lupine grain flour (*Lupinus albus*) up to 250 g kg^{-1} in extruded diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) does not affect the productive performance, feed efficiency and carcass composition, which makes it a good substitute for fishmeal.

Keywords: plant protein, fish meal, productive performance, carcass composition.

INTRODUCCION

Según FAO (2016), estadística de pesca y acuicultura la producción mundial de la pesca de captura (94,6 millones de toneladas) y la acuicultura sin plantas acuáticas (73,8 millones de toneladas) proporcionaron al mundo en el 2014 alrededor de 168,4 millones de toneladas de pescado. De los cuales 86 % se comercializaron como refrigerado, congelado, curado u otras formas de consumo humano directo y 14 % se destinó a usos no alimentarios, como harina y aceite de pescado. La producción pesquera mundial ha aumentado de forma constante en las últimas cinco décadas y el suministro de peces comestibles se ha incrementado a una tasa media anual del 3,2 % superando así la tasa de crecimiento de la población mundial del 1,6 %. El consumo aparente mundial de pescado per cápita aumentó de un promedio de 9,9 kg en el decenio de 1960 a 19,2 kg en 2012, una sustancial tendencia al alza destinada al consumo humano directo en lugar de a otros usos, como por ejemplo, harina y aceite de pescado a modo de materia prima para alimentación en acuicultura, ganadería y animales de peletería (FAO, 2014).

Los peces comestibles cultivados contribuyeron con un porcentaje sin precedentes del 43,8 % del total de 168,4 millones de toneladas de pescado producido por la pesca de captura (incluido el destinado a usos no alimentarios) y la acuicultura en 2014, frente al 13,4 % en 1990 y el 25,7 % en el año 2000 FAO (2016). Desde mediados del decenio de 1990, la acuicultura ha sido el motor de crecimiento de la producción pesquera total, puesto que la producción mundial de la pesca de captura se ha estabilizado (alrededor de los 90 millones de toneladas) debido a la sobre explotación pesquera. La producción acuícola mundial de peces comestibles aumentó a una tasa media anual del 6,2 % en el período de 2000 a 2012, duplicando con creces los 32,4 millones de toneladas del 2000 a 66,6 millones de toneladas en 2012, (FAO, 2014).

Por continente, Asia concentra en torno al 88,8 % del volumen de la producción acuícola mundial y el ritmo más rápido de crecimiento anual de la producción acuícola se observó en África (11,2 %) y América Latina y el Caribe (10,5 %) en el periodo 2000-2014, (FAO, 2016).

En el plano mundial, 15 países produjeron el 92,7 % de todos los peces comestibles cultivados en 2012, entre ellos, Chile (8° lugar), que llegó a convertirse en productor de millones de toneladas (1,1 millones de toneladas), un máximo histórico, superando una fuerte retracción en 2009 y 2010 causada por la rápida expansión del virus Anemia infecciosa del salmón (ISA) que diezmó gran parte de los cultivos de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) en jaulas de mar.

El acelerado aumento de la acuicultura, se ha traducido en una alta demanda de los cada vez más limitados recursos acuáticos, indispensables para satisfacer las necesidades de alimentación de esta industria, donde los principales ingredientes son harina y aceite de pescado. En la actualidad, estos siguen siendo los principales ingredientes en la alimentación de peces comerciales, sin embargo los recursos son finitos y la harina de pescado es cada vez más escasa, debido al estancamiento de su producción y la creciente demanda, impulsando los precios (US \$1.919/tonelada) a máximos históricos a enero de 2013 (FAO, 2014). China sigue siendo el principal mercado, ya que importa más de un 30 % de harina de pescado en cantidad, mientras que Perú y Chile son los principales exportadores (FAO, 2014).

Pokniak (1999) sostiene que la principal fuente de proteína para la alimentación de peces carnívoros en cultivo intensivo es la harina de pescado, ya que los salmónidos utilizan mejor como fuente de proteína y por consiguiente de aminoácidos, los alimentos proteicos de origen animal que aquellos de origen vegetal, diferenciándolos de otros peces. Según Serrano (2004) las características nutricionales más relevantes de la harina de pescado, son su elevada concentración de proteína de excelente valor biológico y un alto contenido de ácidos grasos poli-insaturados omega-3, también es fuente de vitaminas del complejo B y minerales como calcio y fósforo. El P está presente, al igual que el Ca al que está asociado, bajo la forma de hidroxapatita insoluble que proviene de los tejidos duros, tales como huesos y escamas, y su disponibilidad es bastante baja (Watanabe, 1988). Adicionalmente Kaushik, (2003) señala que las principales fuentes de Ca son las harinas de origen animal y el agua, que en medios dulceacuícolas varía dependiendo de su dureza (concentración de Ca), este elemento es indispensable para el desarrollo y crecimiento esquelético, equilibrio osmótico, actividad muscular, entre otros, una carencia alimentaria induce disminución del crecimiento y descalcificación de los huesos y escamas en los peces, aseverando que en el medio acuático, el control del aporte alimentario está íntimamente ligado a la capacidad de absorción a partir del medio ambiente y que en agua dulce, el medio exterior es fuertemente hipotónico en relación con el medio interior versus el agua salada, donde el medio exterior es muy hipertónico en relación con el medio interior, por lo tanto el aporte de minerales es mucho mayor que el medio dulceacuícola.

Los alimentos acuícolas que contienen altos niveles de harina de pescado son generalmente perjudiciales para el medio acuático por su alta descarga de P por parte de los peces. En relación al aceite de pescado es importante en las dietas de salmónidos fundamentalmente por el aporte de ácidos grasos omega-3 eicosapentaenoico y docosahexaenoico (EPA y DHA), esenciales para el pez, estos ácidos grasos cumplen además, funciones muy importantes en la salud del ser humano reduciendo enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes y adicionalmente participan en el desarrollo del sistema nervioso y visión del feto (FAO, 2014).

Sin embargo, estas dietas contienen importantes proporciones de harina de pescado con altos contenidos de nutrientes, especialmente fósforo, que sobrepasan los requerimientos mínimos necesarios para un óptimo crecimiento, contaminando de forma directa por medio de las heces y restos de alimento no consumido, el ambiente acuático donde se desarrolla la industria, eutrofizando estos ecosistemas (Kaushik, 2004). Hua *et al.*, (2005) señalan que el contenido de P de la harina de pescado oscila entre 1,6 % y 4,2 %, mientras que Hua y Bureau (2006) indican que la disponibilidad varía de 17-81 % en la trucha arcoíris, variación importante a la hora de formular la dieta.

Según Buschmann *et al.*, (1996) al momento de alimentar a los salmones en cultivo, alrededor de un 75 % de N, P y C ingresado al sistema por medio del alimento, se pierde como alimento no capturado, alimento no digerido por medio de fecas y otros productos de excreción, solo un 25 % se recupera al cosechar los peces. Soto y Norambuena (2004) señalan, que de estos elementos el P se acumula principalmente en los sedimentos que se encuentran bajo las balsas jaulas, utilizándose como indicador de contaminación y que el N a diferencia del P, permanece en mayor proporción disuelto en la columna de agua. En un estudio realizado en Chiloé, se destaca el incremento de materia orgánica depositada en el fondo del área de cultivo en ambiente marino y lacustre siendo este último mas afectado por las condiciones de mayor tranquilidad del agua (Mühlhauser *et al.*, 1993).

Los principales problemas de descargas de aguas residuales de la acuicultura, varían ampliamente dependiendo de la especie en cultivo, sistema de cultivo y el medio ambiente acuático empleado, las principales complicaciones ambientales relacionadas con la alimentación son provocados por el P (nutriente limitante en aguas continentales) y N (limitante en aguas marinas), ya sea en forma directa por emisión de materia orgánica particulada (alimento sin consumir; productos de la digestión y excreción) o indirecta a través de la eutrofización del agua y el consiguiente aumento de la productividad natural, especialmente en instalaciones de acuicultura con sistemas de circulación abierta (Tacon y Foster, 2003). En consecuencia, la información sobre la digestibilidad de nutrientes y los requerimientos de cada especie son fundamental para la formulación de alimentos acuáticos que son biológica, económica y ambientalmente favorables para el buen desarrollo de la acuicultura, (Sukumaran *et al.*, 2008).

El control del contenido de los efluentes procedentes de la acuicultura, es un problema que está directamente relacionado con el desarrollo acelerado de esta actividad a nivel mundial que debe ser enfrentado y resuelto lo antes posible con el fin de reducir su impacto ambiental. Por esta razón, existe la necesidad de optimizar el manejo de la alimentación aumentando la biodisponibilidad de los nutrientes presentes en las dietas reduciendo así, la composición de los efluentes que son vertidos a los diferentes ecosistemas acuáticos, por medio del uso equilibrado de las diferentes alternativas existentes.

En este sentido, varios investigadores sostienen que las fuentes proteicas vegetales tienen altos contenidos de proteína pero inferiores perfiles de aminoácidos en comparación con la proteína animal (Watanabe, 1997; Hardy, 1998; Francis *et al.*, 2001; Overturf *et al.*, 2003; Toko *et al.*, 2008b). Al mismo tiempo, la mayoría de los alimentos vegetales para alimentación de animales monogástricos, contienen gran variedad de toxinas o factores antinutricionales (FAN) que afectan el metabolismo y reducen la calidad del alimento, interfiriendo con la digestión de minerales, proteínas y carbohidratos, estas toxinas pueden o no ser inactivadas durante el procesamiento de los ingredientes o harinas (molienda, descascarado, extrusión, autoclave, remojo, enzimas o suplementación de aminoácidos) y se pueden clasificar según su resistencia al calor, FAN lábiles al calor, incluyen inhibidores de proteasa (tripsina, quimiotripsina), lectinas, bociógenos (glucosinolatos) y antivitaminas, FAN estables al calor, incluyen saponinas, polisacáridos no amiláceos, proteínas antigénicas, estrógenos, algunos compuestos fenólicos (taninos) y fitatos (Francis *et al.*, 2001). El ácido fitico se encuentra en las semillas en un rango entre 5 a 30 g kg⁻¹ y aproximadamente 70 % del P total se encuentra fijado como fitato, al ser termoestable lo convierte en el principal factor antinutricional, filtrando cationes divalentes en la digestión, tales como Ca, Mg, Mn, Fe y Zn reduciendo la biodisponibilidad en peces alimentados con este tipo de dietas, excretándolo a niveles elevados como producto de desecho (Overturf *et al.*, 2003; Kaushik, 2003). Según Hardy, (1998), el ácido fitico, afecta la disponibilidad de calcio, magnesio y fierro con los que forma el complejo fitina. Por otro lado, Tacon y Metian (2008), señalan que la disminución de la disponibilidad biológica de ciertos minerales también puede ser causada por desequilibrios alimentarios.

Debido a que el ácido fitico es pobremente hidrolizado en la mayoría de las especies monogástricas por la escasa actividad de fitasa en la mucosa intestinal, genera pérdidas minerales que producen claros síntomas de deficiencias en el organismo manifestándose en el caso de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), como crecimiento reducido, baja eficiencia de conversión de alimento, desmineralización de los huesos, cuando el déficit es de P (Overturf *et al.*, 2003). Además, al no ser una forma de P disponible para el pez, es excretado en las heces enriqueciendo el ecosistema acuático, donde los microorganismos degradan el ácido fitico y liberan el fósforo enlazado que contribuye al crecimiento de las algas (Eales, 1998). El uso de sustitutos de harina de pescado que contengan menos P o en una forma más accesible, junto con el desarrollo de tecnologías en la fabricación de alimentos, son esenciales para reducir el contenido de P total en alimentos acuáticos, que reduzcan el impacto ambiental, sin reducir la producción (Storebakken *et al.*, 1998a; Sugiura *et al.*, 2000a; Gatlin *et al.*, 2007). Sin embargo, la sustitución de un porcentaje importante de harina de pescado por otras fuentes de proteína, resulta a menudo en una menor digestibilidad de los alimentos y un menor crecimiento (Sugiura *et al.*, 2000b). Por lo tanto saber manejar esta información es la clave del éxito a la hora de formular nuevas dietas, al igual que el nivel de sustitución y la calidad de la proteína vegetal (Serrano, 2004).

Entre las leguminosas importantes en alimentación animal se encuentran los granos de soya (*Glycine max*), lupino (*Lupinus spp.*) y arveja (*Pisum sativum*), fuentes de proteínas, minerales, vitaminas y energía en la dieta. Desde un punto de vista amplio, se pueden dividir en dos tipos, unas cuya energía es almacenada en forma de lípidos (soya, lupinos) y otras en que la energía se deposita en forma de almidón (habas, frijoles, arvejas y garbanzos) (Brenes y Brenes 1993). La soya también es considerada una oleaginosa por su alto contenido de aceite y es la fuente de proteína vegetal más usada en el reemplazo de harina de pescado (Jahan et al., 2001; Cheng y Hardy 2003). No obstante la harina de soya contiene aproximadamente 30 % de extracto no nitrogenado (ENN) indigestible, factores antinutricionales (FAN) e inhibidores de tripsina (Refstie et al., 2000).

En relación al lupino existen más de trescientas especies y solo cinco son cultivadas, de estas, solo tres especies son claves comercialmente hablando *Lupinus angustifolius*, *Lupinus albus* y *Lupinus luteus* (Glencross et al., 2002). El *Lupinus albus* (lupino dulce) tiene un alto valor proteico (30–34 %) y energético (10-12 % lípido), junto con aportar caroteno y estar libre de elementos inhibidores de crecimiento, como inhibidores de tripsina (Bangoula et al., 1993; Toledo et al., 2004). Sin embargo, las proteínas presentes en la harina de grano de lupino son relativamente ricas en lisina, aunque deficientes en aminoácidos azufrados, como metionina y cistina, situación que limita su inclusión en la formulación de alimentos, otra de las complicaciones que presenta la utilización del grano de lupino en la alimentación animal, es su contenido de alcaloides, que lo hacen no palatable e incluso en algunos casos tóxico, otros componentes antinutricionales son los oligosacáridos, principalmente los α -galactósidos en altas proporciones (7–15 %), (Glencross et al., 2003a; Pereira y Oliva-Teles, 2004). En general, el nivel de los factores antinutricionales del grano de lupino son considerablemente menores que en otras fuentes proteicas vegetales y notablemente está desprovisto de inhibidores de proteasas, saponinas, lecitinas, taninos y glucosinolatos (Glencross et al., 2004b). Generalmente la toxicidad y concentración puede variar de una especie a otra y dentro de las variedades de una misma especie (Francis et al., 2001). Pero a través del mejoramiento genético se han obtenido variedades dulces con un contenido de alcaloides inferior al 0,05 % las cuales son bien aceptadas por los peces (Serrano, 2011).

En el caso del grano de arveja (*Pisum sativum*) la cáscara representa 7-14 % del peso total y se compone principalmente de polisacáridos no amiláceos, el contenido proteico es menor al 25 % pero es rico en almidón, mayor al 50 %, con un contenido energético relativamente alto (Allan et al., 2000). En especies como salmónidos, la utilización digestiva de polisacáridos es limitada, pero con tratamientos de calor, como la extrusión, se produce el quiebre de la estructura del almidón, mejorando su digestibilidad tanto proteica como energética (Burel et al., 2000a). El descascarado, además, produce una disminución en el contenido de fibra del grano (Davis et al., 2002), aumentando con esto la concentración de proteína cruda de un 25,5-27,7 % (Booth et al., 2001). Gracias a la selección genética, hoy en día las variedades de arvejas contienen bajos niveles de inhibidores de tripsina y lectinas, los cuales pueden ser posteriormente desactivados con las altas temperaturas que se alcanzan durante el proceso de extrusión (Burel et al., 2000a). De acuerdo a Fontañas-

Fernandez *et al.*, (1999), el contenido proteico del grano de arveja es de 23,9 % a diferencia de los resultados obtenidos por Carter y Hauler (2000), con concentrado proteico de arveja, que alcanza un 49 % de proteína cruda y no representa diferencias significativas en ganancia en peso, al sustituir un 25 y 33 % de la harina de pescado en dietas para salmón del atlántico.

Una oleaginosa importante en la alimentación animal es el raps o canola (*Brassica napus*; *Brassica campestris*) investigada en muchas especies, tales como salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Higgs *et al.*, 1983; Satoh *et al.*, 1998), salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Sajjadi y Carter 2004), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Burel *et al.*, 2001; Thiessen *et al.*, 2003), entre otras. Es principalmente una fuente de aceite (40-45 %) pero la torta de raps obtenida después de la extracción del aceite es una interesante fuente de proteína (32 a 45 %) con un buen perfil de aminoácidos, aún mejor que la soya (Burel *et al.*, 2000a) incluso la relación de eficiencia proteica (PER) de la variedad canola para algunas especies es superior al grano de soya (Drew *et al.*, 2007). En relación, Forster *et al.*, (1999) encontraron que el aumento en la dieta de concentrado de proteína de canola como reemplazo de harina de pescado condujo al aumento de la digestibilidad de la proteína de la dieta en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Higgs *et al.*, (1983) informó que la calidad de la proteína de canola es equivalente a la de la harina de arenque y más alta que la harina de grano de soya y de algodón, en relación al perfil de aminoácidos esenciales. Sin embargo, Thiessen *et al.*, (2003) sostienen que este tipo de harina contiene altas proporciones de fibra (9–10 %) además de otros factores antinutricionales como taninos, saponinas, ácido fítico y glucosinolatos (GLS). Estos últimos bloquean la absorción y utilización del yodo por parte de la tiroides, provocando un aumento en el tamaño de la glándula tiroides (bocio) en todos los animales, incluyendo peces. Por tales motivos, la calidad del raps ha sido mejorada considerablemente en los últimos años con selección genética de nuevas variedades *Brassica napus* y *Brassica campestris*, con muy bajos contenidos de ácido erúsico y de GLS (menor de 20–50 $\mu\text{mol g}^{-1}$) (Mwachireya *et al.*, 1999). El nombre canola es una combinación de dos palabras en inglés, Canadian y oil, se refiere a las variedades de semillas que producen aceite que contiene menos del 2 % de ácido erúsico y menos de 30 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de glucosinolatos (Enami, 2011).

Por otra parte, tratamientos como descascarado y la utilización de altas temperaturas y solventes orgánicos durante la extracción del aceite, se traducen en una disminución del contenido de GLS, fibra, saponinas y taninos (Burel *et al.*, 2000b); no obstante excesos de temperatura durante el proceso de extracción de aceite pueden resultar en reducida digestibilidad de proteína y algunos aminoácidos, como lisina (Glencross *et al.*, 2004a; Enami, 2011). Adicionalmente Satoh *et al.*, (1998) señalan que el concentrado proteico de canola (CPC), y el CPC sin ácido fítico, puede ser incluido hasta un 39 % en dietas para trucha arcoíris. Kissil, *et al.*, (2000) señalan que es factible el reemplazo total de la harina de pescado por CPC en dietas para trucha arco iris, cuando se añade un mejorador de palatabilidad para evitar la disminución del consumo.

Estos antecedentes avalan la necesidad de caracterizar y evaluar la calidad y biodisponibilidad de nutrientes en ingredientes vegetales. Por lo tanto, se plantea recopilar información básica para el desarrollo de dietas de menor impacto ambiental (esencialmente N y P) y que no afecten el rendimiento en salmónidos, a través de formulaciones que incluyan fuentes vegetales en reemplazo parcial de harina de pescado y que ofrecen una mejor disponibilidad de nutrientes.

Hipótesis

El reemplazo parcial de harina de pescado por harina de grano descascarado de lupino o harina de grano descascarado de arveja o harina de torta de raps en la dieta, no afecta el comportamiento productivo, eficiencia del alimento y composición de la carcasa en juveniles trucha arcoiris

Objetivo general

Determinar la digestibilidad de harina grano descascarado de lupino, harina de grano descascarado de arveja y harina de torta de raps en juveniles de trucha arcoíris y el efecto de su inclusión en la dieta, sobre el comportamiento productivo, eficiencia de conversión del alimento y composición de la carcasa.

Objetivos específicos

1.- Determinar la digestibilidad de materia seca, proteína, extracto etéreo, ENN y energía, de harina de grano descascarado de lupino, harina de grano descascarado de arveja y harina de torta de raps, aplicando una metodología *in vivo*.

2.- Evaluar el efecto de tres niveles de inclusión de cada ingrediente (harina de grano descascarado de lupino, harina de grano descascarado de arveja y harina de torta de raps), en dietas para juveniles trucha arcoíris, sobre el comportamiento productivo y eficiencia de conversión del alimento.

3.-

Evaluar el efecto de tres niveles de inclusión de cada ingrediente (harina de grano descascarado de lupino, harina de grano descascarado de arveja y harina de torta de raps), en dietas para juveniles trucha arcoíris, sobre la composición de la carcasa y la retención de N y P.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo este estudio se realizaron dos ensayos en forma separada y consecutiva, en el primero se evaluó la digestibilidad *in vivo* de los ingredientes y en el segundo se evaluó el efecto del nivel de inclusión de cada ingrediente sobre el comportamiento productivo y composición de la carcasa en juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Estos bioensayos se llevaron a cabo en el galpón de cría y laboratorios de nutrición de la Escuela de Acuicultura, perteneciente a la Universidad Católica de Temuco, Temuco, IX Región.

2.1. Ensayo de digestibilidad

2.1.1 Condiciones experimentales

En este ensayo se utilizaron 600 ejemplares de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de $24,9 \pm 0,4$ g de peso promedio los cuales fueron seleccionados a partir de una población de 1800 peces adquiridos en la empresa Aquafeed S.A. La población total fue mantenida por 7 días en 6 estanques de fibra de vidrio de forma cilindro cónico de $0,5 \text{ m}^3$, para aclimatarlos a las nuevas condiciones de cautiverio, durante este periodo fueron alimentados con la dieta control, la misma que fue utilizada posteriormente en el experimento.

Antes de distribuir los peces en los estanques experimentales, se dejaron en ayuno por 48 h con el fin de vaciar el tracto digestivo y realizar el muestreo al 100 % de la población, mediante el pesaje de los peces se obtuvo la media del grupo y la desviación estándar, para determinar la homogeneidad de los peces que fueron sometidos al experimento y así obtener peso y medida inicial del ensayo (Allan *et al.*, 1999); (Sorensen *et al.*, 2002).

Los peces se distribuyeron al azar en grupos de 50 peces por estanque, utilizando un total de 12 estanques de fibra de vidrio de forma cúbica, con una capacidad de $0,1 \text{ m}^3$ de flujo abierto. Estos estanques cuentan con una columna cilíndrica de PVC conectada a un tubo centrífuga de 50 cc que permite la decantación y recolección de heces (Sistema Guelph), (Figura 1).

Este ensayo tuvo una duración de 30 días, la circulación del agua se ajustó a una tasa de cambio tal que se lograra una óptima recolección de heces ($0,5 \text{ L min}^{-1}$), cada estanque contó con aireación continua manteniendo un nivel de oxígeno de $9,6 \pm 0,9 \text{ mg L}^{-1}$ y la temperatura del agua fue de $13,5 \pm 0,4 \text{ }^\circ\text{C}$ (Bendiksen *et al.*, 2003).



Figura 1. Sistemas de estanques utilizados en el ensayo de digestibilidad *in vivo*. En el detalle se observa estanque contenedor de peces (A), columna de decantación de PVC (B) y tubo centrifuga de 50 cc para colección de heces (C).

Los tratamientos fueron ensayados por triplicado, obteniendo un total de 12 estanques, donde T1: referencia, T2: grano de lupino, T3: grano de arveja y T4: torta de raps, distribuidos a los estanques al azar.

La alimentación se realizó en forma manual a saciedad aparente o “*ad libitum*” dos veces al día (mañana y tarde). Con el objeto de evitar una posible contaminación de las heces con el alimento entregado a los peces, una vez terminada la alimentación los estanques fueron sifoneados por 2 minutos aproximadamente, con el fin de eliminar los restos de alimento no consumido. Se registró diariamente en planillas la cantidad de alimento entregado por estanque. La recolección de las heces se realizó desde el segundo día de iniciado el ensayo, una vez al día, antes de la segunda alimentación, una vez colectadas las heces fueron envasadas en matraces (uno por estanque) previamente rotulados y conservadas en un ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta obtener la cantidad suficiente para realizar los análisis proximales y de óxido de cromo (Cr_2O_3). Una vez reunido el volumen requerido las heces

fueron secadas en frío usando un equipo liofilizador marca Christ ALPHA 1-4 LD (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GMBH, Osterode am Harz, Germany).

2.1.2 Dietas ensayo digestibilidad

La dieta referencia fue formulada en base a harina de pescado como fuente proteica y las tres dietas experimentales estuvieron constituidas por un 70 % dieta referencia (T1) y un 30 % de cada ingrediente a evaluar (grano descascarado de lupino, grano descascarado de arveja y torta de raps). Las dietas se formularon y desarrollaron en conjunto con la unidad de nutrición acuícola de la Universidad Católica de Temuco. La formulación de las dietas y composición proximal de los ingredientes y las dietas se resumen en el Cuadro 2. Luego de definir la composición química de los ingredientes, se procedió a la preparación de las dietas, en las que se utilizó óxido de cromo como marcador inerte (Austreng, 1978).

En la fabricación de las dietas, los ingredientes experimentales (grano de lupino, grano de arveja y torta de raps) fueron descascarados en el caso del lupino y arveja, luego molidos y tamizados a 300 micras y mezclados por 30 minutos con el resto de los ingredientes incluyendo el óxido de cromo en una mezcladora marca Quanli, enseguida se agregó el almidón previamente gelatinizado junto con el aceite de pescado hasta homogenizar bien la mezcla y se procedió a peletizar en una maquina RCA de 1 HP con una matriz de orificios de 2 mm para luego secarlos en un horno vertical marca Comind a 60 °C por 24 hrs, finalmente las dietas fueron almacenadas en bolsas plásticas y refrigeradas.

Cabe mencionar que los ingredientes experimentales fueron utilizados crudos, sin ningún tipo de tratamiento ni extrusión, excepto la torta de raps que es un subproducto de la extracción de aceite, en donde es sometido a presión y temperatura.

Cuadro 1. Formulación de dietas y composición proximal (%) de dietas e ingredientes experimentales, para el ensayo de digestibilidad.

<i>Ingredientes (%)</i>	<i>Dieta referencia</i>	<i>Dieta grano lupino</i>	<i>Dieta grano arveja</i>	<i>Dieta torta de raps</i>
Harina de pescado	65	45,5	45,5	45,5
Aceite de pescado	11	7,7	7,7	7,7
Lupino ^a	0	30	0	0
Arveja ^a	0	0	30	0
Torta de raps	0	0	0	30
Almidón ^b	15	10,5	10,5	10,5
Celulosa	6,5	4,6	4,6	4,6
Mix de vitaminas	0,5	0,4	0,4	0,4
Mix de minerales	0,5	0,4	0,4	0,4
Oxido de cromo (Cr ₂ O ₃)	1,5	1,1	1,1	1,1
TOTAL	100	100	100	100
<i>Composición proximal (%)*</i>				
Materia seca	96,49	99,08	97,44	96,67
Proteína cruda	48,50	46,16	40,30	45,04
Extracto etéreo	17,04	13,86	12,91	14,84
E.N.N. ^c	17,49	25,94	33,61	23,12
Fibra cruda	5,23	4,65	4,33	7,44
Cenizas	11,75	9,39	8,85	9,55
Fósforo	1,40	1,10	1,05	1,19
Cromo	1,23	0,92	0,86	0,87
Energía bruta (Mj kg ⁻¹) **	21,17	20,97	20,03	20,95
<i>Composición proximal (%)*</i>	<i>Harina de pescado</i>	<i>Grano lupino</i>	<i>Grano arveja</i>	<i>Torta de raps</i>
Materia seca	90,2	86,44	85,4	94,91
Proteína cruda	70,92	41,43	19,41	36,01
Extracto etéreo	9,11	12,47	1,50	10,30
E.N.N. ^c	2,86	40,31	75,04	36,49
Fibra cruda	0,81	1,98	1,46	11,45
Cenizas	16,25	3,80	2,59	5,75
Fósforo	2,24	0,408	0,309	0,968
Energía bruta (Mj Kg ⁻¹) **	18,71	19,23	15,93	20,03

^a Descascarados; ^b Mandioca; ^c Extracto no nitrogenado; * Resultados expresados en base seca;

** Medida con bomba calorimétrica.

2.1.3 Parámetros digestivos evaluados

2.1.3.1 Coeficiente de digestibilidad aparente: Para la determinación de los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) se utilizó un método indirecto, usando óxido de cromo (Cr_2O_3), como marcador inerte en las dietas. Los cambios en la proporción de nutrientes y marcador en el alimento y las heces, permiten el cálculo indirecto de la digestibilidad aparente de dichos nutrientes (Cho et al., 1985).

Para ello se utiliza la siguiente expresión:

$$CDA_{\text{nutrientes dieta}} (\%) = 100 - \left(\frac{100 \times \text{Nutriente en heces} (\%) \times Cr_2O_3 \text{ en dieta} (\%)}{\text{Nutriente en dieta} (\%) \times Cr_2O_3 \text{ en heces} (\%)} \right)$$

La digestibilidad total de las dietas está dada por la ecuación:

$$CDA_{\text{total dieta}} (\%) = 100 - \left(\frac{100 \times Cr_2O_3 \text{ en dieta} (\%)}{Cr_2O_3 \text{ en heces} (\%)} \right)$$

Para la determinación del coeficiente de digestibilidad aparente de los ingredientes se utilizaron las siguientes ecuaciones descritas por Bureau y Cho (1999):

$$CDA_{\text{nutriente ingrediente}} = \frac{(\text{Nutriente}_{d. \text{ test}} \times CDA_{d. \text{ test}} - 0,7 \times \text{Nutriente}_{d. \text{ ref.}} \times CDA_{d. \text{ ref.}})}{0,3 \times \text{Nutriente ingrediente test}}$$

La digestibilidad total de los ingredientes está dada por la ecuación:

$$CDA_{\text{total ingrediente}} = \frac{(CDA_{\text{total dieta test}} - 0,7 \times CDA_{\text{total dieta referencia}})}{0,3}$$

2.2 Ensayo de crecimiento

2.2.1 Condiciones experimentales

Para el ensayo de crecimiento se usó material biológico nuevo de una población de 2500, se seleccionaron 1110 juveniles trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), de un peso promedio de $37,1 \pm 3,6$ g y de $15,9 \pm 1$ cm de longitud total, los cuales fueron adquiridos en la empresa Aquafeed S.A. Antes de distribuir los peces en forma aleatoria en los 30 estanques experimentales, la población total (2500 peces), fue mantenida por 10 días en 8 estanques de fibra de vidrio de forma cilindro cónica de $0,5 \text{ m}^3$ para aclimatarlos a las nuevas condiciones de cautiverio, durante este periodo fueron alimentados con una dieta comercial de un calibre apropiado (3 mm), proporcionada por Biomar Chile S.A. Luego de la aclimatación, los peces se dejaron en ayuno por 48 horas con el fin de vaciar el tracto

digestivo y realizar un muestreo biológico al 20 % de la población total, mediante el pesaje de los peces se obtuvo la media del grupo y la desviación estándar, para determinar la homogeneidad de los peces que fueron sometidos al experimento y así obtener peso y medida inicial del ensayo. Los peces se distribuyeron al azar en grupos de 37 peces por estanque, utilizando un total de 30 estanques de fibra de vidrio de forma cúbica, con una capacidad de 0,1 m³ de flujo abierto (los mismos estanques usados en el ensayo de digestibilidad).

Se llevó un registro diario de variables que permitieron controlar las condiciones ambientales de cultivos:

- Temperatura: mañana, medio día y tarde.
- Oxígeno: una hora antes y una hora después de suministrado el alimento.
- Mortalidad: diariamente
- Cantidad de alimento entregado: se registró a diario de lunes a sábado en forma manual y muy minuciosa, la tasa de alimentación fue a saciedad aparente 2 veces al día (mañana y tarde)

Los estanques fueron aireados constantemente a través de difusores, lo que permitió que el nivel de oxígeno no bajara del nivel crítico ($< 4 \text{ mg L}^{-1}$), el fotoperiodo fue de acuerdo a la iluminación de la sala (12 hrs luz/12 hrs oscuridad), la temperatura promedio del agua fue de $14,3 \pm 0,4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y $9,8 \pm 0,7 \text{ mg L}^{-1}$ de oxígeno disuelto.

El ensayo se prolongó por un período de 9 semanas, para evaluar los parámetros zootécnicos se realizaron muestreos de todos los peces cada 3 semanas, se utilizó una balanza digital marca OHAUS modelo Scout II de 0,1 g de precisión y un ictiometro con un 0,1 cm de precisión, además para facilitar el manejo y disminuir el estrés de los peces estos fueron anestesiados con Benzocaina (Bz-20) en una dosis de 15–20 mg L⁻¹ en 100 L de agua. Durante estas actividades se observó si los ejemplares presentaron alguna alteración anatómica externa.

Tratamientos: para cada ingrediente se formularon tres dietas que corresponden a tres inclusiones, grano descascarado de lupino 15, 25 y 35 %; grano descascarado de arveja 5, 15 y 25 % y torta de raps 10, 20 y 30 % más una dieta control en común, todas por triplicado, para lo cual se ocuparon 30 estanques. Las dietas fueron evaluadas de forma independiente para cada ingrediente usando un diseño completamente al azar, resultando T1: control, T2: L15, T3: L25 y T4: L35 para grano de lupino. T1: control, T2: A5, T3: A15 y T4: A25 para grano de arveja y finalmente T1: control, T2: TR10, T3: TR20 y T4: TR30 para torta de raps, (Figura 2).



Figura 2. Sistema de estanques utilizados y esquema del ensayo de crecimiento.

2.2.2 Dietas ensayo crecimiento

Se elaboraron diez dietas extruidas, isoproteicas e isocalóricas, una dieta control cuya principal fuente de proteína fue harina de pescado, tres dietas con grano descascarado de lupino, tres dietas con grano descascarado de arveja y tres dietas con torta de raps como fuentes de proteína vegetal, que reemplazaron la harina de pescado en diferentes proporciones, de acuerdo al perfil proteico y energético de cada ingrediente, haciendo uso de una planilla dinámica de formulación Excel.

Las dietas fueron formuladas y desarrolladas en la planta experimental de alimentos de la unidad de nutrición de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco. La formulación y composición proximal de las dietas se resumen en el cuadro 2. La fuente de variación de cada dieta estuvo dada por los niveles de inclusión de cada ingrediente experimental, lo que hace cambiar la inclusión de otros ingredientes. Previo a la elaboración de las dietas, los granos (lupino y arveja) fueron descascarados por un molino de martillo marca Hund modelo M 200 con mallas de acero de 6 y 3 mm respectivamente, luego los tres ingredientes experimentales fueron molidos usando la malla de 1 mm. Finalmente los tres ingredientes más la harina de pescado fueron tamizados a 600 μ , (Melcion, 2004).

Cuadro 2. Formulación y composición proximal (%) de dietas experimentales para el ensayo de crecimiento.

<i>Ingredientes (%)</i>	<i>Dieta control</i>	<i>Dieta grano lupino</i>			<i>Dieta grano arveja</i>			<i>Dieta torta de raps</i>		
		<i>L15</i>	<i>L25</i>	<i>L35</i>	<i>A5</i>	<i>A15</i>	<i>A25</i>	<i>R10</i>	<i>R20</i>	<i>R30</i>
Harina de pescado	57,3	49,3	44,2	38,9	56,5	55,2	53,7	52,8	48,8	45,0
Lupino ^a	0	15	25	35	0	0	0	0	0	0
Arveja ^a	0	0	0	0	5	15	25	0	0	0
Torta de raps	0	0	0	0	0	0	0	10	20	30
Harina de trigo	18	14	10	6,5	15	7	0	15,5	10	4
Almidón ^b	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Celulosa	3,7	1,8	1,6	1,1	2,5	1,7	0,1	1,2	1,1	1,4
Aceite de pescado	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Aceite de raps	4,5	3,4	2,7	2	4,5	4,6	4,7	4	3,6	3,1
Mix de minerales	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mix de vitaminas	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Oxido de itrio	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Composición Proximal (%)*</i>										
Materia seca	94,97	95,1	94,8	95,8	95,6	95,2	95,7	95,6	94,9	95,8
Proteína cruda	45,32	44,5	44,6	44,1	44,1	44,4	44,4	44,4	44,5	44,2
Extracto etéreo	18,56	17,4	17,6	18,4	17,4	18,0	18,0	17,8	18,3	18,4
E.N.N. ^c	21,00	24,9	25,2	25,9	24,5	24,3	25,2	23,5	22,6	21,9
Fibra cruda	3,66	2,39	2,52	1,99	2,67	2,23	1,31	3,05	3,46	4,51
Cenizas	11,46	10,9	10,1	9,7	11,5	11,2	11,1	11,3	11,1	11,0
Fósforo	1,42	1,36	1,27	1,15	1,51	1,43	1,41	1,41	1,36	1,42
Itrio (g kg ⁻¹)	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06	0,06	0,06
Energía bruta (Mj kg ⁻¹)**	21,23	21,3	21,3	21,7	21,1	21,4	21,4	21,4	21,4	21,6

^a Descascarados; ^b Mandioca; ^c Extracto no nitrogenado.

* Resultados expresados en base seca; ** Medida con bomba calorimétrica.

Los ingredientes de cada dieta fueron mezclados durante 30 minutos, en una mezcladora marca Quanli, y a continuación las mezclas obtenidas fueron ingresadas a la extrusora (Clextral modelo BC 21), obteniéndose aproximadamente 7 kg de pellets extruido de 3 mm de diámetro por dieta. Luego fueron secados en un horno vertical marca Comind a 60 °C hasta alcanzar entre 4-8 % de humedad, posteriormente aceitados al vacío por una aceitadora marca Dinnisen modelo 10 VC y finalmente embolsadas y refrigeradas a -4 °C en un contenedor marca Archiclíma. Todo este proceso se repitió una vez más para obtener 7 kg de pellets extruido por dieta de 4 mm de diámetro, para adecuar la dieta al crecimiento de los peces.

2.2.3 Parámetros productivos evaluados

2.2.3.1 Comportamiento productivo: Al término del experimento el crecimiento fue evaluado de acuerdo a las siguientes ecuaciones.

- $IP = \text{peso promedio final} - \text{peso promedio inicial}$

Dónde:

$IP = \text{Incremento en peso (g pez}^{-1}\text{)}$

- $\text{Incremento en biomasa (g)} = (\text{Biomasa}_2 - \text{Biomasa}_1) - \text{Biomasa mortalidad}$

Dónde:

$\text{Biomasa 1} = \text{Biomasa inicial}$

$\text{Biomasa 2} = \text{Biomasa final}$

$\text{Biomasa mortalidad} = \text{Peso peces muertos.}$

- $SGR = \frac{(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial})}{d \times 100}$

Dónde:

$SGR = \text{Tasa de Crecimiento Específico}$

$d = \text{Días de alimentación}$

2.2.3.2 Eficiencia de conversión de alimento: Por medio del factor de conversión (FC) se evaluó la eficacia del alimento en relación al peso corporal ganado. De igual forma para determinar el rendimiento de las dietas se calculó la eficiencia del factor de conversión (EFC) expresado como porcentaje.

- $FC = \frac{\text{Alimento entregado (g)}}{\text{Incremento en peso (g)}}$

- $EFC = \frac{\text{Incremento en peso (g)} \times 100}{\text{Alimento entregado (g)}}$

2.2.3.3 Factor de condición: El factor de condición (K) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación.

- $K = \frac{\text{peso (g)}}{\text{Longitud}^3 \text{ (cm)}} \times 100$

2.2.3.4 Índice hepatosomático (IHS): Nos da una estimación aproximada del estado de salud, dado que describe la relación entre el tamaño del cuerpo y el tamaño del tejido hepático.

- $$IHS = \frac{(\text{peso hígado (g)}) \times 100}{(\text{peso final (g)})}$$

2.2.3.5 Razón de eficiencia proteica: La proporción de aprovechamiento proteico o razón de eficiencia proteica (PER) se evaluó de acuerdo a la siguiente ecuación.

- $$PER = \frac{\text{Ganancia en peso corporal (g)}}{\text{Cantidad de proteína ingerida (g)}}$$

2.3 Composición de la carcasa

Previo al inicio del ensayo de crecimiento, se sacrificaron 15 peces de la masa inicial total para una primera muestra de la carcasa, estas se reservaron en una bolsa rotulada en un freezer. Una vez finalizado el ensayo se sacrificaron 5 peces por réplica, equivalente a 15 peces por tratamiento y 45 peces por cada ingrediente evaluado, además de las 15 peces del tratamiento control. Las muestras fueron molidas obteniendo una pasta (molino ultracentrífugo marca Retsch modelo ZM 200), las cuales fueron reservadas en un freezer en bolsas plásticas rotuladas (5 peces por réplica) a la cual se realizó análisis proximal y mineral.

2.3.1 Retención de N y P: La retención de nutrientes se define como el porcentaje de aumento de nutrientes en el organismo por unidad de ingesta nutrientes. Nutrientes retenidos en el cuerpo del pez (%) está representado por la fórmula descrita por Watanabe (1988):

$$\text{Retención (\%)} = \frac{(\text{contenido final de nutrientes} - \text{contenido inicial de nutrientes}) \times 100}{(\text{Ingesta total de nutrientes})}$$

Dónde:

Contenido final de nutrientes = Peso final carcasa x Nutriente en carcasa.

Contenido inicial de nutrientes = Peso inicial carcasa x Nutriente en carcasa.

Ingesta total de nutrientes = Consumo de alimento x Nutriente en el alimento.

2.4 Métodos analíticos de composición

2.4.1 Análisis proximal

Los análisis fueron realizados en triplicado, para cada repetición de los alimentos, heces y canal, según las técnicas del método AOAC (1995). La humedad de las muestras se determinó por desecación en estufa a 105 °C hasta peso constante. El contenido de ceniza, fue determinado mediante calcinación de la muestra en horno mufla a 550 °C por tres horas, hasta obtener masa constante. El contenido de proteínas se determinó, mediante la técnica Kjeldhal. El contenido de extracto etéreo (EE) se determinó mediante el método de extracción en caliente de grasa, con equipo Soxhlet usando éter de petróleo. La fibra bruta fue determinada en equipo Feber Tec. El contenido de extracto no nitrogenado (ENN) se determinó por la diferencia de 100 menos la suma de los demás componentes.

2.4.2 Energía bruta

La energía bruta de las dietas e ingredientes fue determinada mediante el cálculo directo con Bomba Calorimétrica marca IKA modelo C 2000 Basic modo Isoperibólico a 25 °C.

2.4.3 Análisis de minerales

Los análisis fueron realizados en triplicado, para cada repetición de los alimentos, heces y canal, según las técnicas del método AOAC (1995). Las muestras fueron secadas entre 70-80 °C durante 12 horas para luego ser molidas e incineradas en una mufla a 500 °C. Las cenizas fueron disueltas en HCL y la solución resultante fue diluida con agua deionizada al volumen requerido. La concentración de los elementos minerales fue determinada a través de un espectrofotómetro de plasma, excepto el fosforo que fue analizado usando un espectrofotómetro de luz visible.

2.4.4 Oxido de cromo

El porcentaje de óxido de cromo contenido en las muestras de alimento y heces se determinó mediante digestión de las mismas con ácido nítrico, sulfúrico y perclórico concentrados, evaluando en espectrofotómetro a 550 nm. La coloración amarilla obtenida como consecuencia de la solubilización del cromo (Furukawa, 1966).

2.4.5 Análisis de aminoácidos

Las muestras de las dietas de crecimiento fueron enviadas por medio de Biomar-Chile S.A. a laboratorios Evonik, Hanau, Alemania. Los análisis de aminoácidos de las dietas

experimentales se realizaron utilizando Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano. AminoNIR® (Evonik Degussa GmbH, Hanau, Alemania).

2.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos a partir de los bioensayos con las distintas dietas, se sometieron a un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA), las diferencias entre las medias del ensayo de digestibilidad se compararon a través del test de Tukey con una probabilidad de $P \leq 0,05$. Las diferencias entre las medias para el ensayo de crecimiento, composición de la carcasa y retención de N y P, se compararon a través del test de Dunnett con una probabilidad de $P \leq 0,05$.

Previo a la aplicación del análisis de varianza se verificó el supuesto de normalidad mediante la prueba de Anderson-Darling y de homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Bartlett. Para datos expresados como porcentajes se aplicó la transformación $\arcsen x$ para lograr homocedasticidad.

Para el análisis estadístico de los datos se usó el programa computacional Minitab versión 17.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Coeficiente de digestibilidad aparente ingredientes

En el cuadro 3, se muestra la composición proximal de las heces utilizadas para realizar los cálculos de CDA. Al mismo tiempo esta información complementada al contenido de nutrientes de los ingredientes experimentales (cuadro 1), pretende aclarar y/o justificar posibles sobreestimación de la digestibilidad de los ingredientes, tal como lo señalan (Burel *et. al.*, 2000a; Gleencross *et. al.*, 2007).

Cuadro 3. Composición proximal de heces colectadas en el ensayo de digestibilidad.

<i>Parámetros (%)</i> *	<i>Dieta referencia</i>	<i>Dieta lupino</i>	<i>Dieta arveja</i>	<i>Dieta torta de raps</i>
Materia Seca	99,5±0,3	99,4±0,3	99,6±0,15	99,1±0,2
Proteína cruda	16,1±0,5	13,2±0,2	9,6±0,5	13,0±0,2
Extracto Etéreo	0,15±0,3	4,1±2,6	0,2±0,2	0,3±0,3
E.N.N. ^a	25,9±0,9	56,5±2,3	62,5±0,2	38,3±0,8
Fibra cruda	22,9±1,4	10,8±1,3	11,3±0,5	24,6±0,6
Cenizas	35,0±0,5	15,4±0,1	16,4±0,5	23,8±0,6
Cromo	5,8±0,3	2,96±0,08	3,3±0,2	3,6±0,5
Energía Bruta (Mj kg ⁻¹)**	13,2±0,3	19,3±0,2	15,7±0,3	14,6±0,13

^a Extracto no nitrogenado. * Resultados expresados en base seca. ** Medido con bomba calorimétrica.

Se puede observar que existieron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) en el CDA de la MS entre los tres ingredientes experimentales lupino (45,4 %) presentó un valor significativamente inferior a torta de raps (69,0 %), mientras que arveja (61,1 %) no mostró diferencias con el resto de los ingredientes (cuadro 4). Estos valores son inferiores a los obtenidos por Burel *et al.*, (2000a), 69,7 % y 66,3 % al incluir 30 % de harina de lupino (*L. albus*) extruido y harina de arveja (*P. sativum*) extruida, respectivamente, en dietas para trucha arcoíris, sin embargo, para torta de raps se tienen valores similares 70,8 % para harina de raps extraída con solvente y 66,6 % para harina de raps con tratamiento térmico. Valores superiores 84,4 % y 85,5 % fueron determinados por Carter y Hauler (2000), tras agregar 25 y 33 % de concentrado proteico de lupino (*L. angustifolius*), además 81,5 % y 82,5 % cuando sustituyeron 25 % y 33 % de harina de pescado por concentrado proteico de arveja en dietas para salmón del Atlántico, lo que confirma que los concentrados proteicos de ingredientes vegetales presentan una mejor digestibilidad, que otras tecnologías de procesamiento aplicadas a los ingredientes vegetales (ejemplo: extrusión). Allan *et al.*, (2000), observaron CDA de la MS igualmente mayores 66,8 % y 52,4 % para *L. albus* y *L. angustifolius*, respectivamente, tras reemplazar un 30 % de la dieta en perca plateada.

La baja digestibilidad de la MS y de los nutrientes medidos en los ingredientes ensayados, se podría atribuir al estado crudo de los granos (lupino y arveja) en la fabricación de las dietas, ya que es conocido el efecto que ejercen los tratamientos tecnológicos (extrusión) en el aumento de la digestibilidad de los nutrientes por parte de los peces. En el caso de la torta de raps, es un subproducto de la industria del aceite, por lo que fue sometido a altas temperaturas y presiones, obteniendo una materia prima con mayor contenido de MS que el resto de los ingredientes experimentales (cuadro 1).

Cuadro 4. Coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de los ingredientes experimentales evaluados en juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

CDA (%)	Ingredientes experimentales		
	Grano lupino	Grano arveja	Torta de raps
Materia seca	45,4 ^a ± 2,8	61,1 ^{ab} ± 5,3	69,0 ^b ± 10,8
Proteína cruda	84,3 ^a ± 1,2	106,3 ^{b*} ± 4,7	95,6 ^b ± 4,0
Extracto etéreo	31,5 ^a ± 2,98	216,3 ^{c*} ± 6,9	92,7 ^b ± 0,8
E.N.N. ^d	7,3 ^a ± 0,5	40,4 ^b ± 1,2	57,6 ^c ± 3,95
Energía	36,0 ^a ± 1,9	62,5 ^b ± 6,9	76,1 ^b ± 7,4

Los valores son el promedio con una desviación estándar (n = 3 réplicas); ^d Extracto no nitrogenado.

^{a,b,c} Valores con superíndices diferentes en la fila denotan diferencias significativas (P<0.05) (Tukey).

* Donde el CDA fue mayor que 100%, una digestibilidad absoluta de 100% fue asumida por razones prácticas.

El CDA de la proteína fue significativamente superior (P<0,05) para arveja (106,3 %) y torta de raps (95,6 %) con respecto a lupino (84,3 %), asumiendo 100 % en el caso de la arveja, (Glencross *et al.*, 2007). Valores superiores a los publicados por Burel *et al.*, (2000a), para arveja extruida (87,9 %), harina de raps extraída con solvente (90,9 %) y harina de raps con tratamiento térmico (88,5 %), inclusive superior a harina de pescado (89,2 %), pero inferior a lupino extruido (96,2 %), todos incluidos en un 30 % en dieta para trucha arcoíris. También inferior al CDA de proteína obtenido por Carter y Hauler (2000), (95,9 %) al trabajar con *L. angustifolius* incluido en un 33 % de la dieta para salmón del Atlántico y 95,9 % para perca plateada alimentadas con dietas con 30 % de harina de lupino blanco. Valores similares al presente ensayo obtuvieron Glencross *et al.*, (2008a) en harina *L. angustifolius* (85,3 %) y mayores que Allan *et al.*, (2000), donde obtuvieron valores de 79,1 % en perca plateada alimentada con *L. angustifolius* extruido incluido en similares proporciones, al igual que De la Higuera *et al.*, (1988), que obtuvieron 81,8 % y 81,0 % para lupino blanco crudo y sometido a calor respectivamente, ambos trabajos para 40 % de sustitución y realizados con trucha arcoíris.

La digestibilidad de la proteína para arveja, fue sobreestimada debido al bajo porcentaje del nutriente (proteína) en el ingrediente (cuadro 1), ya que a pesar que las dietas de referencia suelen ser formuladas para satisfacer los requerimientos, se reconoce que la composición de esta puede influir en la digestibilidad, perdiéndose el efecto del ingrediente en la dieta referencia (error experimental) (Lupatsch *et al.*, 1997; Glencross *et al.*, 2003c). Otro factor de sobreestimación en arveja y torta de raps es la lixiviación a que se encuentran sometidas las heces en el agua, sobre todo cuando hay un alto contenido de carbohidratos y fibras (arveja y torta de raps, respectivamente) en estas (cuadro 3), provocando una disolución y disgregación del material fecal (Glencross *et al.*, 2007). En cuanto al lupino (*L. albus*) obtuvo valores de digestibilidad de la proteína parecidos a estudios similares, considerando que no tuvo ningún tratamiento térmico previo y tomando en cuenta que es el ingrediente con mayor contenido proteico de los tres ensayados (cuadro 1).

El resultado para CDA del extracto etéreo mostro diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los tres ingredientes, arveja 216,4 % (se asume 100 %), significativamente superior que torta de raps 92,7 % y este a su vez mayor que lupino 31,5 %. Valores inferiores al compararlos con los obtenidos por Gouveia *et al.*, (1993) con 95,9 % para trucha arcoíris, sustituyendo 30 % de lupino blanco. Morales *et al.*, (1994) obtuvieron un 88,7 % de CDA para extracto etéreo en dietas con un 40 % de lupino crudo. Valores superiores para lupino, inferior para arveja, pero similares para torta de raps obtuvieron Aslaksen *et al.*, (2007) en dietas extruidas (96,5 % lupino, 91,0 arveja y 93,2 torta de raps, con 24, 18 y 18 % respectivamente de inclusión) en salmón del Atlántico y asevera que la digestibilidad de los lípidos disminuye linealmente con el incremento dietario de celulosa. Por otro lado Krogdahl *et al.*, (2003) señalan que la digestibilidad de los lípidos disminuye cuando salmones son alimentados con soya desgrasada, inclusive modificando el intestino distal causando una enteritis con altos niveles de inclusión. Similares conclusiones a las obtenidas por Penn *et al.*, (2011) en altas inclusiones (30 y 35 % concentrado proteína de soya y arveja, respectivamente) en dietas para salmón del Atlántico, también provocando una enteritis en el intestino distal. A diferencia de Aslaksen *et al.*, (2007) que incluyeron 18 % de arveja cruda y Overland *et al.*, (2009) que incluyeron 20 % de concentrado proteico de arveja en salmón del Atlántico sin inducir problemas de enteritis, probablemente por el bajo porcentaje de inclusión y el procesamiento previo de la arveja.

Según lo descrito anteriormente, en el presente ensayo es muy probable que el valor de CDA de extracto etéreo para arveja haya sido sobreestimado, debido al error experimental producto del muy bajo contenido del nutriente (lípidos) en el ingrediente (cuadro 1). Además de la eventual lixiviación, debido a su alto contenido de carbohidratos en las heces (cuadro 3), que disgregan las heces y diluyen los nutrientes inflando el valor de las muestras (Guillaume J. y Choubert G., 2003; Gleencross *et al.*, 2007). Por otra parte la torta de raps contiene un aceptable contenido de lípidos, pero a su vez un elevado contenido de fibra en el ingrediente, dieta y heces, esta última al estar en contacto con el agua provocan el mismo efecto o quizás mayor que los carbohidratos, ya que las fibras disgregan aún más las heces aumentando la disolución en este caso de lípidos y por ende abultando su digestibilidad. Penn *et al.*, (2011) obtuvieron digestibilidades de extracto etéreo menor en salmón del Atlántico, alimentados con concentrado de proteína de soya (CPS) y concentrado de proteína de arveja (CPA) en comparación con harina de pescado, el CPA resultó en la inflamación del intestino distal similar a los descritos para la enteritis en soja. Además, los peces alimentados con la dieta CPA redujeron la actividad enzimática de borde de cepillo en el intestino distal y aumento de la actividad de tripsina en la digesta. Por su parte el lupino a pesar de tener el mayor contenido de lípidos de los tres ingredientes experimentales (cuadro 1), obtuvo una baja digestibilidad, debido probablemente al estado crudo del ingrediente y a los efectos que ejercen los FAN (alcaloides, oligosacáridos) los alcaloides en peces son considerados disuasivos alimentarios por su sabor amargo y los altos niveles de oligosacáridos (50 g kg^{-1} de MS) pueden interferir con la digestión de otros nutrientes, provocan efectos osmóticos en el intestino y fermentación anaeróbica de azúcares provocando producción de gas (Glencross *et al.*, 2002). Ya que la digestibilidad

para extracto etéreo de dietas con reemplazo de lupino son incluso superiores a dietas en base a harina de pescado, posiblemente por la diferencia en la composición de ácidos grasos, puesto que la mayoría de los ácidos grasos de la harina de pescado son saturados (51,4 %), mientras que en las harinas de lupinos sólo se encuentran en un 13–15 %, al mismo tiempo las grasas saturadas tienen elevados puntos de fusión lo que las hace menos digestibles para los peces que las poliinsaturadas, esto puede explicarse por las condiciones térmicas inferiores con respecto a los mamíferos (Watanabe, 1982; Robaina, 1998). Lo que concuerda con Corraze, (1999) señalando que en general los lípidos, especialmente poliinsaturados de cadena larga presentan una muy buena digestión en el salmón del Atlántico, cuyos CDA de lípidos son entre un 90-98 %.

El CDA del extracto no nitrogenado mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) entre los tres ingredientes, torta de raps (57,6 %) fue significativamente superior que arveja (40,3 %) y este a su vez mayor que lupino (7,3 %). Valores muy superiores fueron obtenidos por Burel *et al.*, (2000a) para almidón de trigo gelatinizado (98,3 %) y arveja extruida (82,8 %), en truchas, igualmente Storebakken *et al.*, (2000b) al reemplazar 12,5 y 25 % de proteína de harina de pescado por gluten de maíz, alcanzaron valores de 64,0 y 66,0 % respectivamente, en salmón del Atlántico. Adicionalmente Wilson, (1994) y Storebakken *et al.*, (1998b) señalan que el CDA del extracto no nitrogenado, para dietas en las que dicho nutriente se encuentra presente en un 20 % es aproximadamente 77,2 %, y que los valores de digestibilidad para éste nutriente varían en forma inversa al nivel de inclusión o al aumento del consumo del alimento, esto concuerda con Hillestad *et al.*, (2001), ya que cuando aumentaron el nivel de carbohidratos de 8 a un 18 % el CDA de los carbohidratos disminuyó de 62,1 a un 46,1 % respectivamente. Sin embargo estos valores fueron más bajos a los reportados por Gouveia y Davies (2000), 94,1 y 93,5 % al incluir un 10 y 20 % de harina de arveja extruida, esta diferencia seguramente se debe al tratamiento de extrusión al que fue sometido el ingrediente. Ya que Storebakken *et al.*, (1998b) señalan que en general, los almidones son pobremente digeridos por los salmónidos, pero que esta digestibilidad puede ser incrementada con tratamientos térmicos (gelatinización), CDA de 30–40 % han sido reportados para almidones crudos, mientras que aquellos almidones gelatinizados incrementan su CDA 87–90 %. En adición, Alonso *et al.*, (2000a) mejoraron la digestibilidad in vitro del fríjol común en un 60 % después de un tratamiento de extrusión, pero FAN como lectinas encontradas en leguminosas especialmente en arveja, pueden resistir la degradación térmica y es conocido que las lectinas reducen la utilización de los carbohidratos en animales terrestre y posiblemente en peces (Gouveia y Davies, 2000).

La tecnología de extrusión lleva a la producción de dietas expandidas resultando una gelatinización parcial o total de los almidones en los ingredientes ricos en carbohidratos, esto permite dentro del tracto gastrointestinal de los peces una mejor disponibilidad del almidón al ataque enzimático de las amilasas, generando un aumento en los coeficientes de digestibilidad e incremento en la energía digestible de los ingredientes (Storebakken *et al.*, 1998b). Bangoula *et al.*, (1993) informaron que la extrusión en el lupino mejora la

utilización del extracto no nitrogenado en la trucha arcoíris. Melcion (2004), señala que después de la extrusión a alta temperatura, se observa una disminución del 30 % de la concentración de alfa-galactósidos. Estos autores sugirieron que esta mejora se relaciona con una mayor exposición de las paredes celulares, lo que permite un mejor acceso de la enzima digestiva a los componentes celulares y a una degradación parcial de alfa-galactósidos.

En el presente estudio todo sugiere que la baja digestibilidad del extracto no nitrogenado en los ingredientes evaluados, estaría dado principalmente por el uso de los ingredientes crudos, sin previo tratamiento tecnológico, solo descascarado de los granos (lupino y arveja) y peletizados, además de la limitada habilidad de los peces carnívoros para utilizar los hidratos de carbono dietéticos. En el caso del lupino esta desprovisto de almidón y posee altas proporciones de alfa-galactósidos (7-15 % de MS), localizados principalmente en los cotiledones que reducen su digestibilidad (Ferrando y Blum 1989; Guillaume y Métailler 2003). En el caso del grano de arveja es rica en almidón y lectinas, este último se fija sobre los enterocitos inhibiendo sus funciones absorbentes (Guillaume y Métailler 2003). El descascarado disminuye el contenido de fibra, pero no tiene efecto sobre los alfa-galactósidos, (Melcion y van der Poel 1993). En el caso de la torta de raps su elevado contenido de fibra en el ingrediente y dieta (cuadro 1) es casi el doble que la harina de soya, provocando un efecto de arrastre a nivel gastrointestinal y facilita el tránsito digestivo, disminuyendo la digestibilidad de energía y nutrientes, (Kaushik, 2003). Adicionalmente Burel *et al.*, (2001) sugieren efectos negativos en la digestibilidad y utilización metabólica de nutrientes y energía dietaría debido al efecto de glucosinolatos que deprimen la función tiroidal en truchas arcoíris. Aunque la cantidad de glucosinolatos en la semilla de raps se ha minimizado, todavía es un anti-nutriente típico que causa efectos adversos sobre el hígado y el riñón de los peces, (Higgs *et al.*, 1983).

El CDA de energía mostró ser significativamente superior ($P < 0,05$) para arveja (62,5 %) y torta de raps (76,1 %) con respecto a lupino (36,0 %). Según Petterson, (2000) la menor digestibilidad de energía en lupino se debe al alto contenido de polisacáridos no almidonado. Estos valores son inferiores a los obtenidos por Glencross *et al.*, (2004c), (53,1 %) con método recolección por stripping; (70,5 %) con método recolección por sedimentación para *L. angustifolius*; (72,1 %) por stripping y (83,3 %) por sedimentación para harina de soya. Burel *et al.*, (2000a), también reportan valores de CDA de energía mayores a los del presente estudio, (68,9 %) arveja extruida; (77 %) lupino extruido y similares para torta de raps (76,4 %) raps extraído con solvente y (70 %) raps con tratamiento térmico, todos para truchas. Gomes *et al.*, (1995) reportan valores de CDA de energía en trucha arcoíris similares (59,2 y 60,2 % para arveja y haba, respectivamente), superiores (87,2 %, para mezcla de canola y arveja extruida) y muy superiores (61,2 %, para *L. angustifolius*) a los del presente ensayo.

En el caso de la arveja la mayor parte de la energía está dada por su alto contenido de carbohidratos, especialmente almidón, que generalmente es menos digerible que la proteína o grasa, a diferencia de la torta de raps que la mayor parte de su energía proviene de su proteína y extracto etéreo, al igual que el lupino (Burel *et al.*, 2000a). En relación a esto Storebakken *et al.*, (2000b) señalan que la digestibilidad de la energía de las dietas esta dada por la suma de los efectos de los CDA de las proteínas, lípidos y carbohidratos. Esto quedó demostrado por Glencross *et al.*, (2004a) donde el CDA de energía del concentrado de proteína de raps fue significativamente mayor que el expeller de raps, raps y soya extraído por solvente, probablemente por su alto contenido de proteína y reducido nivel de carbohidratos.

Un estudio realizado por Burel *et al.*, (2000a), sobre la utilización de harinas de grano de arveja, lupino y raps, incorporadas en distintos niveles en dietas de truchas, señalan la ventaja de aplicar un tratamiento térmico como la extrusión, sobre las harinas con la finalidad de romper su estructura, aumentando así la digestibilidad del almidón, junto con la eliminación de factores anti-nutricionales, además se indicó la necesidad del descascarado de las arvejas para disminuir el contenido de fibra de la harina. Los resultados exponen que la dieta con harina de lupino fue más eficiente que la dieta de raps y arveja, al mismo tiempo la dieta con harina de arveja presentó una menor digestibilidad, especialmente del almidón, lo que conlleva a una disminución de la energía digestible, en comparación con el almidón de trigo.

En consecuencia, algunos métodos de procesamiento y/o tecnologías utilizadas para producir el ingrediente desde su estado crudo o natural son útiles, para disminuir factores antinutricionales (FAN), mejorando la digestibilidad del alimento y por lo tanto la biodisponibilidad de nutrientes y energía para el pez. En este sentido Allan *et al.*, (2000), señalan que la determinación de la digestibilidad es el primer paso en la evaluación del potencial de un ingrediente para el uso en dietas para especies en cultivos acuícola.

Finalmente existen varios factores que afectan la digestibilidad, uno de ellos es el efecto de la metodología usada, que en el presente ensayo fue *in vivo* en donde los CDA calculados fueron seguramente sobreestimados para torta de raps y arveja, (cuadro 4) debido a su mayor contenido de fibra (11,45 %) y carbohidratos (75,04 %), respectivamente, que los hacen tener mayor contenido de fibra y carbohidratos en la dietas (cuadro 1) y también en las heces (cuadro 3), estas últimas una vez en la columna de agua aumenta la disolución del material fecal (lixiviación), reduciendo el contenido de nutrientes total de las heces colectadas y consecuentemente sobreestimando el valor de digestibilidad determinado desde las muestras, situación que se pudo observar a simple vista durante la recolección de los tubos centrífugos, donde las heces de las dietas con inclusión de arveja y torta de raps se encuentran más desintegradas y disueltas que la dieta con lupino y referencia, lo que concuerda con Glencross *et al.*, (2007) señalando que cuando las heces se recogen de la columna de agua, existe el potencial de sobreestimar la digestibilidad debido a la

lixiviación de las pérdidas de materia orgánica, que en este caso fue el principal factor de sobreestimación.

Otro factor no menor que seguramente afecto en este ensayo, es el error de cálculo o error experimental que se produce cuando el nutriente en el ingrediente es demasiado bajo, perdiéndose el efecto del ingrediente en la dieta referencia, dando como resultado una digestibilidad aumentada (Gleencross *et al.*, 2007). Factiblemente es el caso de la arveja en el presente ensayo donde los CDA de proteína y extracto etéreo, fueron claramente sobreestimados.

3.2 Crecimiento y eficiencia de conversión del alimento

Durante las 9 semanas que duró el experimento de crecimiento, todas las dietas experimentales fueron consumidas sin problemas de rechazo por los peces.

Las dietas evaluadas en este ensayo fueron formuladas para contener un perfil nutricional equilibrado y satisfacer los requerimientos proteicos y energéticos mínimos para la trucha arcoíris. Como se muestra en el cuadro 5, el perfil de aminoácidos esenciales para todas las dietas satisface los requerimientos establecidos para la trucha arcoíris (Ogino, 1980; Hardy, 2002), incluso para metionina que es el primer aminoácido limitante en varias proteínas vegetales (Hardy y Barrows, 2002). Por lo tanto, la reducción en el crecimiento observado en algunos grupos de peces alimentados con las dietas experimentales en el presente estudio, podrían estar relacionados con la presencia de factores antinutricionales, digestibilidad y nivel de consumo de los ingredientes que fueron evaluados, en lugar de a un desequilibrio nutricional o deficiencia.

Cuadro 5. Composición de aminoácidos esenciales (AAE) de las dietas y requerimientos para trucha arcoíris.

AAE ($g\ kg^{-1}$ dieta)	Control	Lupino			Arveja			Torta de raps			Req*
		L-15	L-25	L-35	A-5	A-15	A-25	R-10	R-20	R-30	
Arginina	23	25	27	28	22	23	24	22	22	23	14
Lisina	31	28	28	26	30	31	31	29	29	29	21
Histidina	13	12	12	11	13	13	13	13	13	13	6
Fenilalanina	16	16	16	16	16	16	17	16	16	16	13
Leucina	29	29	29	29	29	29	29	29	28	29	18
Isoleucina	16	16	17	17	16	17	17	16	16	17	10
Metionina	11	9	9	8	11	11	10	10	10	10	8
Cisteína	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	4
Valina	19	19	19	19	19	20	20	19	19	20	13
Treonina	17	16	16	16	16	16	17	16	16	17	14

* Requerimientos de aminoácidos para trucha arco iris (Ogino, 1980).

En general, la sobrevivencia fue mayor al 84 % y no mostro diferencias significativas ($p>0,05$) entre los tratamientos con el control, los peces se mantuvieron aparentemente sanos sin signos externos de anormalidad, durante el ensayo. El índice hepatosomático (IHS) solo mostró diferencias significativas, en los peces alimentados con arveja, el tratamiento A25 expreso un significativamente mayor IHS que el tratamiento control. También, hubo una tendencia notable de aumento de los valores de IHS para los grupos de peces alimentados con las dietas de torta de raps, sobre todo en sus mayores inclusiones. En relación a esto Shearer, (1994), señala que a pesar de que cada órgano tiende a representar un porcentaje fijo del peso total del pez independiente a su tamaño, el peso y tamaño del hígado responden a las características nutricionales del alimento, siendo los altos niveles de carbohidratos responsables de aumentar su tamaño. Adicionalmente Russell *et al.*, (2001) señalan que el uso de leguminosas y cereales en la nutrición de peces, puede tener efectos adversos sobre el hígado, después de largos periodos de alimentación, debido a una tendencia a incrementar los depósitos de glicógeno. Por otra parte los glucosinolatos presentes en raps, aunque se han disminuido, todavía son un anti-nutriente típico que causa efectos adversos sobre el hígado y el riñón de los peces, (Burel y Kaushik, 2008).

3.2.1 Lupino.

De acuerdo a los resultados que se muestran en el cuadro 6. Las truchas arcoíris alimentadas con 15 y 25 % de inclusión de lupino, no presentan diferencias significativas en el comportamiento productivo con la dieta control. Resultados bastante satisfactorios, al igual que una serie de investigaciones en el tema, donde han informado que diferentes especies de grano de lupino se pueden utilizar para sustituir la harina de pescado en alimentos acuícolas, sin efectos significativos sobre el comportamiento productivo, cuando se incluye a niveles de hasta 300 g kg^{-1} de la dieta (De la Higuera *et al.*, 1988; Hughes, 1988; Robaina *et al.*, 1995; Burel *et al.*, 2000; Glencross *et al.*, 2004b; Borquez *et al.*, 2011; Glencross *et al.*, 2011; Serrano, 2011). Los elevados niveles de inclusión de este ingrediente tienen que ver con el alto contenido proteico del *lupinus albus* que en este caso es el mayor entre los tres ingredientes evaluados (cuadro 1), siendo una de las especies más utilizadas en alimentación animal, a pesar de su déficit de aminoácidos azufrados como metionina y cistina (Glencross *et al.*, 2002). Sin embargo, se han desarrollado semillas más ricas en aminoácidos azufrados (Glencross *et al.*, 2003b) y con un menor contenido de alcaloides (Petterson, 2000). Se ha señalado que la inclusión sobre un 40 % de *Lupinus albus* en dietas suplementadas con aminoácidos, disminuye la ganancia de peso en trucha arcoíris (Hugues, 1991; Farhangi y Carter, 2001).

El peso final, incremento en peso, incremento en biomasa, tasa de crecimiento específico (SGR), del tratamiento control, mostró ser significativamente mayor ($P<0,05$), que el tratamiento L35. Consecuentemente la inclusión de lupino en 150 y 250 g kg^{-1} de dieta no afectó el comportamiento productivo de los peces y no mostraron diferencias con el tratamiento control. Valores inferiores a los conseguidos en otros experimentos alimentados con diferentes leguminosas cuyos mejores SGR fueron cercanos a 2,12 % en truchas

alimentadas con lupino (Gouveia *et al.*, 1993; Morales *et al.*, 1994). En general la ganancia de peso decrece con mayores niveles de inclusión, al igual que el nivel de consumo.

Cuadro 6. Comportamiento productivo y eficiencia de conversión de alimento en juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con diferentes niveles de inclusión de lupino (*Lupinus albus*).

<i>Parámetros</i>	<i>Dietas experimentales</i>			
	<i>Control</i>	<i>L-15</i>	<i>L-25</i>	<i>L-35</i>
Peso inicial (g pez ⁻¹)	36,9 ^a ± 0,5	37,4 ^a ± 1,6	36,8 ^a ± 1,8	36,6 ^a ± 1,3
Peso final (g pez ⁻¹)	112,8 ^a ± 3,7	111,5 ^a ± 1,9	101,4 ^a ± 7,0	90,6 ± 5,6
Incremento en peso (g pez ⁻¹)	75,9 ^a ± 3,7	74,1 ^a ± 2,3	64,6 ^a ± 8,4	53,9 ± 7,0
Incremento en biomasa (g)	2528 ^a ± 146	2554 ^a ± 95	2195 ^a ± 325	1802 ± 245
SGR (%)	1,64 ^a ± 0,05	1,61 ^a ± 0,06	1,49 ^a ± 0,16	1,33 ± 0,15
K	1,03 ^a ± 0,06	1,0 ^a ± 0,0	0,97 ^a ± 0,11	0,97 ^a ± 0,11
IHS (%)	1,6 ^a ± 0,27	1,47 ^a ± 0,06	1,5 ^a ± 0,2	1,44 ^a ± 0,15
Consumo de alimento (g)	3117 ^a ± 151	3041 ^a ± 57	2779 ± 213	2509 ± 32
FC	1,15 ^a ± 0,01	1,12 ^a ± 0,03	1,19 ^a ± 0,10	1,34 ^a ± 0,15
EFC (%)	86,8 ^a ± 0,9	89,0 ^a ± 2,4	84,6 ^a ± 6,6	75,5 ^a ± 9,3
PER	1,79 ^a ± 0,02	1,88 ^a ± 0,05	1,76 ^a ± 0,14	1,63 ^a ± 0,19
Sobrevivencia (%)	84,7 ^a ± 14,9	93,7 ^a ± 1,6	92,8 ^a ± 1,56	90,99 ^a ± 1,6

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 réplicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnett).

En cuanto al consumo de alimento por parte de los peces, estos muestran un menor consumo a medida que aumenta el nivel de inclusión de lupino en la dieta, consumiendo significativamente menos alimento los peces alimentados con los tratamientos L25 y L35 en relación al tratamiento control. La harina de lupino presenta factores antinutricionales, como los alcaloides que podrían contribuir a una menor palatabilidad, afectando la ingesta de alimento (Francis *et al.*, 2001; Serrano, 2011). A pesar de que la trucha arcoíris puede tolerar alcaloides en un grado mayor que otros animales monogástricos, estos reducen la palatabilidad como una manera de prevenir la ingestión de dosis tóxicas de estos componentes (Serrano, 2011).

La cuantificación de la eficiencia del alimento, mediante el factor de conversión (FC) revela que el valor nutricional de las dietas con diferentes inclusiones de lupino, no presentan diferencias significativas (P>0,05) con la dieta control. Similar comportamiento es reportado por varios autores, en donde los valores fueron cercanos a 1,0. (De la Higuera *et al.*, 1988; Gouveia *et al.*, 1993; Alarcón, 2000; Carter y Hauler, 2000; Farhangi y Carter, 2001; Bransden *et al.*, 2001). Sin embargo en el presente ensayo existe una clara tendencia a disminuir la conversión de alimento en crecimiento, conforme aumenta el nivel de

inclusión, disminuyendo la eficiencia de las dietas tal como lo muestra la EFC, esto concuerda con Mundheim *et al.*, (2004) quienes evidenciaron una disminución en la eficiencia de conversión a medida que se incrementaban los niveles de gluten de maíz y soya desgrasada en dietas para salmón del Atlántico. Destacan la alta EFC (89 %) y PER (1,88) de la dieta L15 que supera incluso al tratamiento control (86,8 % y 1,79 respectivamente), Sin embargo los valores de PER reportados en este estudio son menores a los obtenidos por Alarcón (2000) quien obtuvo un PER de 2,1 cuando incluyó un 30 % de harina de lupino sin cáscara previo a un tratamiento de cocción, en dietas para salmón del Atlántico.

Glencross *et al.*, (2011) observaron un incremento en el consumo de alimento con inclusión de lupino amarillo y amargo en dietas para trucha arcoíris en comparación con dietas similares que contenían harina de soja. El mismo estudio informó que el crecimiento aumentó con la adición de ambas variedades de lupinos en comparación con una dieta a base de harina de pescado de alta calidad utilizado como control. Incluso entre las mismas especies de peces, la comparación de los resultados de diferentes estudios de alimentación se complica por el hecho de que el valor nutritivo y la composición bruta de nutrientes de cultivares de lupino son variables (Glencross *et al.*, 2003b; Pereira y Oliva-Teles 2004; Glencross *et al.*, 2008a; Glencross *et al.*, 2008b). Las diferencias en el contenido de factores antinutricionales entre las especies de lupino y variedades también pueden explicar parte de los resultados contrastantes en la utilización de diferentes harinas de semillas de lupino.

3.2.2 Arveja.

La inclusión de arveja en niveles de 15 y 25 % resultó en una reducción en el comportamiento productivo en comparación con el grupo de peces alimentados con la dieta control. (cuadro 7). Esto confirma que los altos CDA (proteína y EE) obtenidos por el ingrediente fueron sobreestimados (bajo nivel de proteína y EE), ya que de lo contrario hubiese obtenidos rendimientos similares al tratamiento control. Según (Glencross y Carter, 2007), la semilla de arveja a pesar de pertenecer a la misma familia del lupino y soya, difiere considerablemente en su composición, con un notable bajo contenido de proteína y grasa y alto contenido de carbohidratos, siendo su principal factor limitante en el uso de alimentos para acuicultura su bajo nivel de proteína.

La inclusión de 15 y 25 % de harina de arveja en la dieta, deprimen significativamente el crecimiento de las truchas en comparación con los peces alimentados con la dieta control, a diferencia de la dieta con 5 % de inclusión de arveja en la dieta que no mostro diferencias con el control. Estos valores son mucho más bajos que los reportados por Thiessen *et al.*, (2003) cuando incluyeron un 25 % de arveja descascarada y un 20 % de concentrado proteico de arveja, obteniendo SGR de 1,93 % y 1,94 % respectivamente en trucha arcoíris. Estas diferencias pueden estar dadas por el menor nivel de proteína que presentan las dietas

experimentales del presente estudio, cercanas al 45 % y por los mayores niveles de carbohidratos, superior al 20 %, además el ingrediente utilizado en este estudio no presentaba ningún tipo de tratamiento previo, solo la extrusión al momento de fabricar las dietas. Valores igualmente superiores de SGR fueron obtenidos por Carter y Hauler, (2000) que reportaron un crecimiento diario cercano al 1,5 % en salmón del Atlántico alimentado con dietas con un nivel de sustitución de un 25 y 33 % de harina de pescado por concentrado proteico de arveja.

Cuadro 7. Comportamiento productivo y eficiencia del alimento en juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con diferentes niveles de inclusión de arveja (*Pisum sativum* var. *Rocket*).

<i>Parámetros</i>	<i>Control</i>	<i>Dietas experimentales</i>		
		<i>A-5</i>	<i>A-15</i>	<i>A-25</i>
Peso inicial (g pez ⁻¹)	36,9 ^a ± 0,5	37,9 ^a ± 1,1	37,7 ^a ± 0,6	37,0 ^a ± 1,0
Peso final (g pez ⁻¹)	112,8 ^a ± 3,7	101,2 ^a ± 7,5	78,4 ± 10,4	63,8 ± 5,7
Incremento en peso (g pez ⁻¹)	75,9 ^a ± 3,7	63,2 ^a ± 7,8	40,6 ± 9,9	26,8 ± 6,5
Incremento en biomasa (g)	2528 ^a ± 146	2128 ^a ± 315	1292 ± 355	852 ± 147
SGR	1,64 ^a ± 0,05	1,44 ^a ± 0,13	1,07 ± 0,18	0,80 ± 0,16
K	1,0 ^a ± 0,06	1,03 ^a ± 0,06	0,96 ^a ± 0,06	0,86 ± 0,06
IHS (%)	1,6 ^a ± 0,27	1,8 ^a ± 0,1	1,7 ^a ± 0,17	2,1 ± 0,27
Consumo de alimento (g)	3117 ^a ± 151	2946 ^a ± 334	2575 ± 206	2271 ± 97
FC	1,15 ^a ± 0,01	1,34 ^a ± 0,17	1,96 ± 0,46	2,58 ± 0,37
EFC (%)	86,8 ^a ± 0,9	75,4 ^a ± 9,0	52,9 ± 11,4	39,2 ± 5,2
PER	1,79 ^a ± 0,02	1,65 ^a ± 0,2	1,12 ± 0,24	0,84 ± 0,12
Sobrevivencia (%)	84,7 ^a ± 14,9	91,9 ^a ± 7,2	86,5 ^a ± 2,7	89,2 ^a ± 7,2

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 réplicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnnett).

El consumo de alimento fue menor en los tratamientos A15 y A25 en relación al tratamiento control, con diferencias significativas (P<0.05), revelando un menor consumo a mayor nivel de inclusión de arveja en la dieta. Siendo el ingrediente con menor consumo al compararlo con lupino y torta de raps, probablemente debido a la alta concentración de saponina y taninos que aportan un sabor amargo y astringente, respectivamente, disminuyendo su palatabilidad, cumpliendo un rol antinutricional (Pettersen, 2000). Esto está relacionado a una pobre ingesta debido a la incorporación de ingrediente vegetal, como es reportado por Gomes *et al.*, (1995) trabajando con trucha arcoíris, o a la influencia de los factores antinutricionales presente en las dietas con altos contenidos de leguminosas (Keembiyehetty y De Silva, 1993).

La cuantificación de la eficiencia del alimento, mediante el factor de conversión (FC) revela que el valor nutricional de las dietas con inclusión de 15 y 25 % de arveja presenta diferencias significativas (P<0,05) con la dieta control, mostrando una clara disminución de

conversión de alimento en crecimiento. Al igual que Keembiyehetty y De Silva, (1993) trabajando con fríjol negro reportaron una disminución significativa del FC cuando los peces eran alimentados con dietas que contenían altos niveles de este ingrediente (sobre un 33 %). Por otro lado Thiessen *et al.*, (2003) al incluir un 20 % de concentrado proteico de arveja previo a un tratamiento de autoclavado en dieta para trucha arcoíris, alcanzo FC de 1,06, superior a lo obtenido en el presente estudio, probablemente debido a los tratamientos tecnológicos aplicados al ingrediente. Del mismo modo el PER mostro una eficiencia de conversión proteica significativamente mayor en los peces alimentados con la dieta control en relación a los alimentados con los tratamientos A15 y A25. Registrando valores que oscilan entre 0,84 y 1,79 siendo mucho menor el obtenido por la dieta A25, manifestando una disminución en la eficiencia proteica del alimento producto de un menor consumo, a medida que aumenta el nivel de inclusión, llegando inclusive a externalizar este comportamiento a nivel del factor de condición, siendo el único ingrediente experimental en provocar diferencias significativas en este parámetro. Los peces alimentados con la dieta A25 fueron significativamente más pequeños y delgados que los peces del tratamiento control. Thiessen *et al.*, (2003) obtuvieron valores de PER de 1,8 en trucha arcoíris al incluir un 20 % de concentrado proteico de arveja, mayor a los del presente estudio, esta diferencia puede ser explicadas por los aportes energéticos de las dietas, ya que como sostiene Farhangi y Carter (2001) ante una mayor energía disponible en las dietas, los peces utilizan mejor las proteínas para incrementar su peso, y los niveles energéticos de las dietas propuestas en este estudio (21 Mj kg^{-1}) son menores a los reportados por Thiessen *et al.*, (2003) (24 Mj kg^{-1}).

Trugo *et al.*, (2000) señalan que semillas de leguminosas como arveja (*Pisum sativum*) parecen ser una fuente aceptable para su uso en la formulación de alimentos para animales. Sin embargo, la utilización de esta leguminosa en los alimentos de salmónidos se ha visto limitada por su bajo contenido de proteína, la deficiencia de aminoácidos esenciales y la presencia de ciertos factores antinutricionales. El almidón es el componente principal de la semilla de arveja, y aunque no es un factor antinutricional como tal, es mal digerido y puede afectar la utilización de nutrientes en dietas para peces carnívoros (Thiessen *et al.*, 2003). Otra preocupación importante con respecto a la inclusión de harina de arvejas en la dieta de salmónidos es su contenido de taninos, que forma complejos con enzimas del intestino haciéndolas no disponibles, este efecto sumado al sabor amargo que afecta su palatabilidad, limita su inclusión, al igual que la presencia de lectinas, glicoproteínas capaces de unirse a azúcares específicos y a otras glicoproteínas, son resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas proteolíticas, y son eliminadas con las heces (Brenes y Brenes, 1993), en un menor grado saponinas e inhibidores de proteasas (Petterson, 2000). Por otra parte Alonso *et al.*, (2000b) han señalado que el procesamiento térmico de las arvejas también puede afectar la calidad y disponibilidad de algunos nutrientes, dependiendo de la tecnología y las condiciones aplicadas algunos aminoácidos pueden dejar de estar disponibles después del tratamiento térmico, debido a la formación de enlaces cruzados o condensación de Maillard que produce una reducción de los hidratos de carbono. Adicionalmente Al-Marzooqil y Wiseman (2009), señalan que el proceso de

extrusión de arvejas debe llevarse a cabo bajo condiciones suaves en vista de los efectos negativos de las altas temperaturas sobre la digestibilidad de aminoácidos.

3.2.3 Torta de raps.

La adición de torta de raps en todos los niveles de inclusión evaluados en este ensayo deprimió significativamente el comportamiento productivo de la trucha arcoíris en comparación con el grupo de peces alimentados con la dieta control (cuadro 8). Esto confirma que los altos CDA obtenidos por el ingrediente fueron sobreestimados (lixiviación), ya que de lo contrario hubiese obtenidos rendimientos similares al tratamiento control.

El peso final promedio de los peces disminuyó en la medida que se aumentó la inclusión de torta de raps en la dieta (90,1, 84,6 y 69,3 g pez⁻¹ para R10, R20 y R30, respectivamente), con diferencias significativas en relación al tratamiento control (P<0.05). De igual modo el incremento en peso, incremento en biomasa y SGR, presentaron la misma tendencia, los peces alimentados con la dieta control, mostraron un mejor comportamiento productivo que el resto de los tratamientos con inclusión de torta de raps, el cual disminuía a medida que aumentaba el nivel de inclusión de torta de raps.

Cuadro 8. Comportamiento productivo y eficiencia del alimento en juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con diferentes niveles de inclusión de torta de raps (*Brassica napus*).

<i>Parámetros</i>	<i>Dietas experimentales</i>			
	<i>Control</i>	<i>R-10</i>	<i>R-20</i>	<i>R-30</i>
Peso inicial (g pez ⁻¹)	36,9 ^a ± 0,5	36,7 ^a ± 0,9	36,9 ^a ± 0,6	36,6 ^a ± 0,6
Peso final (g pez ⁻¹)	112,8 ^a ± 3,7	90,1 ± 4,5	84,6 ± 11,0	69,3 ± 5,3
Incremento en peso (g pez ⁻¹)	75,9 ^a ± 3,7	53,4 ± 3,6	47,7 ± 11,0	32,7 ± 4,7
Incremento en biomasa (g)	2528 ^a ± 146	1787 ± 141	1516 ± 398	1130 ± 123
SGR	1,64 ^a ± 0,05	1,32 ± 0,04	1,21 ± 0,19	0,94 ± 0,09
K	1,03 ^a ± 0,06	0,96 ^a ± 0,06	1,0 ^a ± 0,02	0,96 ^a ± 0,11
IHS (%)	1,6 ^a ± 0,27	1,77 ^a ± 0,47	1,87 ^a ± 0,12	1,87 ^a ± 0,25
Consumo de alimento (g)	3117 ^a ± 151	2937 ^a ± 108	2963 ^a ± 147	2826 ^a ± 83
FC	1,15 ^a ± 0,01	1,58 ^a ± 0,12	1,93 ± 0,50	2,42 ± 0,32
EFC (%)	86,8 ^a ± 0,9	63,6 ± 4,8	54,0 ± 12,8	41,8 ± 5,8
PER	1,79 ^a ± 0,02	1,37 ± 0,10	1,14 ± 0,27	0,91 ± 0,12
Sobrevivencia (%)	84,7 ^a ± 14,9	90,9 ^a ± 1,5	86,5 ^a ± 7,2	92,8 ^a ± 4,13

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 réplicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnett).

En cuanto al consumo de alimento no se observaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos, demostrando una aceptable palatabilidad, obteniendo el mayor consumo de los tres ingredientes ensayados. Según Enami, (2011) taninos presentes (1,5-3,0 %) en harina de canola, donde variedades de semillas color amarillo tienen menores niveles de taninos que variedades cafés y no parecen tener el mismo efecto negativo sobre palatabilidad y digestibilidad de proteína. Niveles de inclusión de 20 % de harina de canola en dietas para *Salmo gairdneri* no mostraron efectos negativos, sobre consumo de alimento, propiedades organolépticas y ganancia de peso (Hardy y Sullivan, 1983).

La cuantificación de la eficiencia del alimento, mediante el factor de conversión (FC) revela que el valor nutricional de los tratamientos R20 (1,93) y R30 (2,42) presenta diferencias significativas ($P < 0,05$) con el tratamiento control (1,15). Valores muy altos al compararlos con Thiessen *et al.*, (2003) al incluir un 20 % de harina de canola en dietas para trucha arcoíris, cuyo FC fue 1,12. Similar comportamiento tuvieron la EFC y PER donde los tratamientos con torta de raps (86,8 % y 1,79 EFC y PER, respectivamente) mostraron una eficiencia del alimento significativamente menor en relación al tratamiento control (86,8 % y 1,79 EFC y PER, respectivamente). Valores inferiores a los obtenidos por Thiessen *et al.*, (2003) quienes alcanzaron un PER de 1,74 al incluir un 20 % de harina de canola, en trucha arcoíris. Adicionalmente Lim y Klesius (1998); Burel *et al.*, (2001) obtuvieron reducidos crecimientos, consumos de alimento y FC en trucha arcoíris alimentadas con elevadas inclusiones de harina de raps con niveles crecientes de glucosinolatos, al igual que Higgs *et al.*, (1983) con salmón chinook. Sin embargo Forster *et al.*, (1999) sugiere que el concentrado de proteína de raps disminuye los efectos de los glucosinolatos en trucha arcoíris. Al igual que Thiessen *et al.*, (2004) que incluyó hasta 30 % de concentrado de raps en dietas para trucha arcoíris sin afectar el crecimiento y eficiencia del alimento.

A pesar que el proceso de extrusión, puede reducir los efectos de los factores antinutricionales presentes en la torta de raps, esto podría no ser suficiente para incorporar este ingrediente en el alimento comercial a los niveles que se evaluaron en este estudio. Sustancias nocivas como el ácido erúxico y glucosinolatos son características de todas las crucíferas y antiguamente representaban los principales factores que restringen la incorporación en alimentación animal, actualmente se han desarrollado nuevos cultivares con niveles reducidos de estos componentes (Hertrampf y Piedad-Pascual, 2000). Sin embargo, la torta de raps también contiene altos niveles de fibra bruta, hidratos de carbono no digeribles, ácido fítico y otros factores antinutricionales, tales como taninos, sinapina y compuestos goitrogenicos capaces de suprimir la función de la glándula tiroides (Burel y Kaushik, 2008).

El interés en el uso de este ingrediente se basa no sólo en su bajo precio y alta disponibilidad, ya que es un subproducto de la extracción del aceite de raps, sino también a

su adecuado perfil de aminoácidos. Se ha recomendado que la inclusión de este ingrediente sea restringido a niveles entre 50 y 100 g kg⁻¹ de la dieta (Hertrampf y Piedad-Pascual 2000; Burel y Kaushik, 2008) y los resultados obtenidos en este estudio así lo avalan. Sin embargo es necesario evaluar metodologías de procesamiento que permiten la incorporación de este ingrediente a niveles más altos en dietas para salmónidos, como el concentrado de proteína de raps (CPR) que tiene casi el mismo nivel de proteína cruda que harina de pescado y altos niveles de lisina y metionina comparado con gluten de maíz y soya, además tiene bajo contenido de fitatos y glucosinolatos (Enami, 2011).

3.3 Composición de la carcasa y retención de N y P.

Al finalizar las 9 semanas del ensayo de crecimiento, todos los tratamientos presentaron variaciones relativas respecto a la composición corporal inicial, con el aumento de peso aumenta principalmente el contenido de grasa y MS, junto con una disminución en el contenido de cenizas, producto de un aumento en el contenido de agua durante este periodo.

3.3.1 Lupino

En general, las diferentes inclusiones de harina de lupino en la dieta, no afectaron en forma significativa ($P>0,05$) la composición corporal de los peces (cuadro 9).

A pesar de no mostrar diferencias significativas con el control ($P>0,05$) el contenido de proteína y lípido en las carcasas tiende a disminuir con el aumento de inclusión de lupino. Por su parte, los contenidos de cenizas, Ca y P en las carcasas de los peces sometidos a los tratamientos con lupino tampoco mostraron diferencias con el control, pero si una mejora en la composición de cenizas, Ca y P de los peces, cuando se incluye en la dieta hasta 25 % de harina de lupino. Esto coincide con los resultados de retención (cuadro 10) y su buen comportamiento productivo (cuadro 6). En relación a esto Burel *et al.*, (1998), señalan que la concentración de fósforo en el pez puede ser afectada por la existencia de insumos vegetales en la dieta, al utilizar altas inclusiones como 50 % de lupino, informaron una disminución en el contenido de fósforo de los peces, disminuyendo igualmente su contenido de cenizas. Por el contrario, al utilizar niveles de inclusión menores a un 40 % de lupino los valores de materia seca y cenizas se mantienen inmutables durante todo el periodo de experimentación, (Hughes, 1991; Gouveia *et al.*, 1993; Carter y Hauler, 2000; Bransden *et al.*, 2001). Análogo comportamiento a los peces del presente estudio.

Cuadro 9. Composición proximal y perfil de minerales (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con distintos niveles de inclusión de lupino (*Lupinus albus*).

<i>Proximal (%)</i>	<i>Inicial</i>	<i>Control</i>	<i>Grano de lupino</i>		
			<i>L15</i>	<i>L25</i>	<i>L35</i>
Materia seca	17,3	26,7 ^a ± 1,9	26,6 ^a ± 1,5	25,1 ^a ± 2,6	25,8 ^a ± 2,0
Proteína cruda	13,2	15,6 ^a ± 1,5	15,2 ^a ± 0,2	14,9 ^a ± 0,5	14,8 ^a ± 0,3
Extracto etéreo	1,22	9,1 ^a ± 0,9	9,1 ^a ± 1,3	8,0 ^a ± 1,9	8,2 ^a ± 2,0
Cenizas	2,17	1,7 ^a ± 0,2	1,8 ^a ± 0,1	1,9 ^a ± 0,2	1,7 ^a ± 0,1
<i>Minerales (g kg⁻¹)</i>					
Calcio	4,92	2,5 ^a ± 0,7	2,8 ^a ± 0,2	2,9 ^a ± 0,4	2,3 ^a ± 0,2
Fósforo	3,92	3,1 ^a ± 0,4	3,3 ^a ± 0,1	3,2 ^a ± 0,2	3,0 ^a ± 0,1
Magnesio	0,31	0,2 ^a ± 0,0			
Potasio	0,62	0,7 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,0	0,7 ^a ± 0,0

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 replicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnnett).

Con los datos de composición de la carcasa, se calculó la retención de N y P. En general, la inclusión de lupino en la dieta, no afectó en forma significativa (P>0,05) la retención de N y P (Cuadro 10), siendo los valores obtenidos semejantes al control.

Sin embargo, se observa una tendencia a disminuir la retención de N en la medida que se incrementa la inclusión de lupino, dejando ver que la retención de N es inversamente proporcional al aumento de harina de lupino en la dieta, obteniendo L15 (33,1 %) una mayor retención de N que el control (31,7 %). Por su parte la retención de P, aun cuando no muestra diferencias estadísticamente significativas de los tratamientos con el control, los peces del tratamiento L15 (19,6%) y L25 (19,5%) mostraron un valor de retención de P más alta que el control (16,3%), disminuyendo drásticamente con el mayor nivel de inclusión de lupino. Esto confirma que el mejor comportamiento productivo y de composición de los peces se obtiene cuando se incluye hasta 25% de lupino en la dieta.

Cuadro 10. Retención de N y P (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con distintos niveles de inclusión de lupino (*Lupinus albus*)

<i>Parámetros</i>	<i>Control</i>	<i>Grano de lupino</i>		
		<i>L15</i>	<i>L25</i>	<i>L35</i>
Retención N (%)	31,7 ^a ± 2,5	33,1 ^a ± 1,3	31,3 ^a ± 2,5	27,0 ^a ± 1,6
Retención P (%)	16,3 ^a ± 2,3	19,6 ^a ± 0,5	19,5 ^a ± 0,3	15,2 ^a ± 1,8

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 réplicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnnett).

Toko *et al.*, (2008a), revelan una reducción del contenido de Ca y P en carcasas de *Clarias gariiepinus* con el incremento de inclusiones de harina de soya (HS) y algodón (HA) (600 g kg^{-1}), mientras que contenidos de Mg, K, Fe, Zn y Mn en las carcasas no muestran cambios marcados, sin embargo menores inclusiones de estos ingredientes (300 g kg^{-1}) no manifestaron diferencias en crecimiento y composición mineral de la carcasa, concluyendo que esta reducción de Ca y P en la composición mineral de la carcasa, se deba probablemente a la presencia de ácido fítico y la relevancia de estos minerales ya que son críticos para el crecimiento, metabolismo ENN, EE y proteínas, entre otros. De hecho Ca y P son claves en el desarrollo y mantención del sistema esquelético, en el cuerpo del pez y alrededor de 90 % de Ca y 80 % de P se encuentra en los huesos (Hertrampf y Piedad-Pascual, 2000; Lall and Lewis-McCrea, 2007). Estos resultados coinciden con el presente estudio, donde no hubo diferencias marcadas en la composición de la carcasa, pero si una tendencia a disminuir con el nivel de inclusión, que probablemente hubieran sido más contrastadas con un mayor nivel de inclusión o tiempo de experimentación.

Una carencia de P se traduce en una pobre mineralización y anomalías esqueléticas tales como huesos blandos, espinas y costillas curvas, disminución del crecimiento esquelético, deformación del cráneo y vertebras y disminución del peso (Baeverfjord *et al.*, 1998). Hardy *et al.*, (1998) observaron en juveniles de trucha arcoíris alimentados con una dieta deficiente en P signos clínicos de anorexia, coloración oscura, letargo y reducido crecimiento al igual que Vielma y Lall, (1998) en salmón del Atlántico. Otro de los problemas ligados al P es el exceso de catabolitos fosforados, ya que la desproporción de fosfatos puede causar la eutrofización del medio acuático, (Kaushik, 2003). Por lo tanto, el contenido de P en la dieta de los peces es importante para un buen rendimiento del crecimiento y resistencia a las enfermedades.

Como ya se ha dicho, el ácido fítico es el principal factor antinutricional que tiene una gran influencia sobre la disponibilidad mineral en los peces, además de contener P no disponible, la mayoría de los ingredientes vegetales usados en dietas para peces contienen ácido fítico que además es termoestable, limitando su nivel de inclusión en dietas para la mayoría de los animales monogástricos y peces. Petterson, (2000) señala que granos de lupino y arveja contiene cantidades similares de fitato (0,5 %) y que no deberían afectar mayormente a bajas inclusiones.

El uso de fitasas en dietas formuladas con ingredientes vegetales que mejora la absorción y la utilización de Ca, P, Mg ha sido demostrada en *Pangasius pangasius* (Debnath *et al.*, 2005), al igual que en *Oncorhynchus mykiss* (Storebakken *et al.*, 1998a; Dalsgaard *et al.*, 2008). En general los alimentos vegetales pre-tratados con fitasas mejoran la digestibilidad aparente de los minerales e incrementan la asimilación mineral en los peces, por ende, conllevan una reducción en la suplementación mineral y una menor descarga de minerales al medio ambiente.

El objetivo de una alimentación sostenible es aumentar la eficiencia de retención, reduciendo el exceso de nutrientes que se descargan al medio. Las implicaciones del uso de ingredientes vegetales han sido ampliamente estudiadas (Satoh *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2004; Koko *et al.*, 2010; Sarker *et al.*, 2011) y es reconocido que la sustitución proporcional de harina de pescado por ingredientes de origen vegetal se ve obstaculizada por la escasa respuesta del crecimiento visto con frecuencia en los peces alimentados con altos niveles de materias primas vegetales (Geurden *et al.*, 2013). Sin embargo, algunos ingredientes vegetales se han descrito como alternativas viables en sustitución parcial de la harina de pescado en dietas para la acuicultura y que una adecuada combinación de harinas proteicas vegetales alternativas de bajo P, reducen significativamente la descarga de P en dietas de trucha arcoíris sin comprometer el crecimiento (Satoh *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2004).

El presente estudio demostró que el lupino puede ser una fuente de proteína vegetal alternativa a la harina de pescado en la formulación de dietas sustentables para la acuicultura, con un nivel de inclusión de hasta 25 % y que conforme a sus óptimas características nutricionales (buen contenido proteico y lipídico) y sometándolo a tecnologías de procesamiento como la extrusión podrían resultar muy beneficiosas en alimentación de peces.

3.3.2 Arveja

La mayor inclusión de harina de arveja (A25) en la dieta, afectó en forma significativa la composición proximal de los peces (cuadro 11). La MS de los peces sometidos al tratamiento A25 mostro ser menor que los peces control. Los peces alimentados con la dieta A25 (13 %) muestran un significativo menor contenido de proteína en la carcasa, en relación a los peces del tratamiento control (15,6 %), hecho que es confirmado por la retención de N calculada (cuadro 12). Igualmente el contenido lipídico de los peces fue afectado por el mayor nivel de inclusión de arveja, siendo el tratamiento A25 (6,7 %) significativamente menor que el control (9,1 %).

Estos resultados estarían relacionados con el bajo consumo de alimento mostrado, producto de la presencia de factores antinutricionales como taninos y saponina, que afectan el sabor y cuyo efecto aumenta con el creciente nivel de inclusión del ingrediente en la dieta. Esto coincide con los resultados de retención (cuadro 12) y su bajo comportamiento productivo (cuadro 7), el que se vio reflejado en el menor valor de factor de condición alcanzado por los peces de este tratamiento (A25) al término del ensayo.

Cuadro 11. Composición proximal y perfil de minerales (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con distintos niveles de inclusión de arveja (*Pisum sativum* var. *Rocket*).

<i>Proximal (%)</i>	<i>Inicial</i>	<i>Control</i>	<i>Grano de arveja</i>		
			<i>A5</i>	<i>A15</i>	<i>A25</i>
Materia Seca	17,3	26,7 ^a ±1,9	26,7 ^a ±2,0	26,5 ^a ±0,5	22,4±2,2
Proteína	13,2	15,6 ^a ±1,5	14,6 ^a ±0,3	13,8 ^a ±0,2	13,0±0,7
Extracto etéreo	1,22	9,1 ^a ±0,9	9,2 ^a ±1,4	9,9 ^a ±0,8	6,7±1,7
Cenizas	2,17	1,7 ^a ±0,2	1,7 ^a ±0,1	1,7 ^a ±0,1	1,7 ^a ±0,1
<i>Minerales (g kg⁻¹)</i>					
Calcio	4,92	2,5 ^a ±0,7	2,9 ^a ±0,3	2,7 ^a ±0,3	3,7 ^a ±0,7
Fósforo	3,92	3,1 ^a ±0,4	3,3 ^a ±0,1	3,1 ^a ±0,1	3,3 ^a ±0,3
Magnesio	0,31	0,2 ^a ±0,0	0,2 ^a ±0,0	0,2 ^a ±0,0	0,2 ^a ±0,0
Potasio	0,62	0,7 ^a ±0,1	0,7 ^a ±0,0	0,7 ^a ±0,0	0,5 ±0,0

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 replicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnett).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) en la composición mineral de las carcasas, sin embargo se vio una leve alza en los contenidos de Ca y P, en relación a esto Sugiura *et al.*, (2004) encontraron una correlación positiva entre contenido de ceniza, P y Ca de las carcasas y la concentración de P de la dieta (cuadro 2). Por otra parte el contenido de potasio para A25 (0,5 g kg⁻¹) fue significativamente menor, en este sentido Kaushik, (2003), señala que el potasio es responsable del equilibrio iónico intracelular, su aporte alimentario parece no ser necesario, ya que depende de la concentración del medio y su carencia induce a anorexia, tetania y convulsiones que se pueden traducir en mortalidades masivas.

Cuadro 12. Retención de N y P (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con distintos niveles de inclusión de arveja (*Pisum sativum* var. *Rocket*).

<i>Parámetros</i>	<i>Control</i>	<i>Grano de arveja</i>		
		<i>A5</i>	<i>A15</i>	<i>A25</i>
Retención N (%)	31,7 ^a ±2,5	29,6 ^a ±1,9	19,2±1,3	12,4±2,9
Retención P (%)	16,3 ^a ±2,3	14,0 ^a ±1,8	10,2±0,8	8,9±1,0

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 réplicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra a denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnett).

La retención de N en los peces, disminuye considerablemente a medida que aumenta la inclusión de arveja en la dieta (cuadro 12), obteniendo retenciones significativamente menores para los tratamientos A15 (19,2 %) y A25 (12,4 %) versus el control (31,7 %). La

retención de P sigue la misma tendencia, disminuyendo considerablemente a medida que aumenta la inclusión de arveja en la dieta.

Overland *et al.*, (2009) señalan que una dieta con 20 % de concentrado de proteína de arveja para salmón del Atlántico, no tuvo ningún efecto sobre la composición corporal, mientras que una dieta con 20 % soya redujo el contenido de grasa y de energía de la carcasa en comparación con la dieta control, concluyendo que el concentrado de proteína de arveja era un ingrediente prometedor en dietas para salmónidos y podría reemplazar parcialmente a la harina de pescado sin ningún efecto adverso en el crecimiento, composición de la carcasa o histología del intestino distal. Igualmente Zhang *et al.*, (2012a), señalan que la composición de la carcasa de *Oncorhynchus mykiss* no fue afectada ni por el nivel de inclusión de proteínas vegetales (30 y 50 %) ni por su relación lupino/arveja, excepto el contenido de cenizas y retención de N y energía en la carcasa que fue significativamente mayor para los peces alimentados con 30 % de inclusión de proteína vegetal. Similares resultados se obtuvieron en *Acanthopagrus schlegeli*, en análogas condiciones con los mismos ingredientes, niveles de proteína y relación lupino/arveja (Zhang *et al.*, 2012b).

Como ya se ha dicho, la capacidad de la fitasa para mejorar la biodisponibilidad de P y por ende de la composición de la carcasa, junto con reducir la descarga de P es una buena alternativa cuando se incluyen ingredientes vegetales en alimentación de animales monogástricos y peces. Sin embargo, todavía no hay una conclusión coherente que la fitasa podría mejorar la proteína y la utilización de energía (Cao *et al.*, 2007), principales parámetros afectados para los peces alimentados con arveja en este ensayo.

El presente estudio demostró que la arveja puede ser una fuente de proteína vegetal alternativa a la harina de pescado en la formulación de dietas sustentables para la acuicultura, con un nivel de inclusión de hasta 5% y que conforme a sus características nutricionales (bajo contenido proteico y lípido y alto contenido de carbohidratos), tecnologías de procesamiento como el concentrado o aislado de proteína podrían resultar muy beneficiosas en alimentación de peces.

3.3.3 Torta de raps

En general, la inclusión de torta de raps en la dieta, no afectó en forma significativa la composición de los peces ($P > 0,05$); pero si hubo una disminución de la composición proximal y mineral en las carcasas de los peces sometidos al tratamiento R30. Esto es similar al comportamiento productivo (cuadro 8) y de retención (cuadro 14) donde el menor rendimiento de los peces fue para R30, a pesar de ser el ingrediente con mayor consumo.

Esto probablemente está relacionado al alto nivel de fibra (11-13 %), ácido fitico (alrededor de 4 %, que es mayor a la soya) y glucosinolatos (aunque se ha disminuido, todavía es un anti-nutriente típico que causa efectos adversos sobre el hígado y el riñón de los peces), FAN típicos en este ingrediente que como consecuencia resultan en un pobre crecimiento, (Higgs *et al.*, 1983; Thiessen *et al.*, 2003; Gatlin *et al.*, 2007), situación que confirma la sobreestimación (lixiviación) de los CDA en este ingrediente. A pesar de tener un buen perfil nutricional, los altos niveles de fibra cruda ya sea sola o con fitatos, tienen grandes efectos adversos sobre la digestibilidad de la proteína de raps en trucha arcoíris (Enami, 2011). Por lo que la aplicación de técnicas y/o tecnologías para disminuir estos factores antinutricionales serían de vital importancia en el mejoramiento de este ingrediente como un potencial sustituto de la harina de pescado.

Cuadro 13. Composición proximal y perfil de minerales (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con distintos niveles inclusión de torta de raps (*Brassica napus*).

<i>Proximal (%)</i>	<i>Inicial</i>	<i>Control</i>	<i>Torta de raps</i>		
			<i>R10</i>	<i>R20</i>	<i>R30</i>
Materia Seca	17,3	26,7 ^a ±1,9	26,1 ^a ±1,2	26,9 ^a ±1,5	26,5 ^a ±4,0
Proteína	13,2	15,6 ^a ±1,5	15,1 ^a ±0,3	14,2 ^a ±0,3	14,8 ^a ±0,3
Extracto Etéreo	1,22	9,1 ^a ±0,9	8,5 ^a ±0,9	9,7 ^a ±1,9	7,8 ^a ±2,0
Cenizas	2,17	1,7 ^a ±0,2	1,8 ^a ±0,06	2,1 ^a ±0,5	1,6 ^a ±0,2
<i>Minerales (g kg⁻¹)</i>					
Calcio	4,92	2,5 ^a ±0,7	3,5 ^a ±1,5	3,0 ^a ±0,9	2,3 ^a ±0,8
Fósforo	3,92	3,1 ^a ±0,4	3,7 ^a ±0,9	3,2 ^a ±0,5	2,5 ^a ±0,8
Magnesio	0,31	0,21 ^a ±0,0	0,3 ^a ±0,1	0,2 ^a ±0,0	0,2 ^a ±0,0
Potasio	0,62	0,7 ^a ±0,1	0,7 ^a ±0,1	0,6 ^a ±0,0	0,6 ^a ±0,0

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 replicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra *a* denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnnett).

A pesar de no mostrar diferencias significativas en la composición mineral, el contenido de cenizas, Ca y P en las carcasas de los tratamientos R10 y R20 muestran valores similares, incluso mayores al tratamiento control. En relación a esto Enami, (2011) señala que la harina de canola es una buena fuente de minerales esenciales comparado con otras fuentes vegetales de semillas de aceite, especialmente buena fuente de selenio y P y al igual que otras fuentes vegetales el P se encuentra como fitato y es biodisponible entre 30-50 % del P total.

En condiciones similares al presente ensayo, (Gomes *et al.*, 1993) en *Oncorhynchus mykiss* y (Glencross *et al.*, 2004a) en *Pagrus auratus* obtuvieron menores contenidos de proteína en las carcasas con el aumento de inclusión de harina de raps. Por otro lado Luo *et al.*, (2006) no encontró diferencias en la composición del cuerpo en juveniles de trucha arcoíris

alimentadas con inclusiones crecientes de otra oleaginosa como harina de algodón (extraída con solvente).

Con los datos de composición de la carcasa, se calculó la retención de N y P (cuadro 14), se observa que la retención de N en los peces, disminuye considerablemente a medida que aumenta la inclusión de torta de raps en la dieta, con diferencias estadísticamente significativas de todos los tratamientos respecto al tratamiento control (31,7 %), concluyendo que el N retenido es inversamente proporcional al aumento de torta de raps en la dieta. Siguiendo la misma tendencia, la retención de P, disminuye considerablemente a medida que aumenta la inclusión de torta de raps, obteniendo retenciones significativamente menores para los tratamientos R20 (9,5 %) y R30 (5,1%) en relación al tratamiento control (16,3 %), revelando que el P retenido es inversamente proporcional al aumento de torta de raps en la dieta.

Cuadro 14. Retención de N y P (base húmeda) en carcasas de juveniles trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con distintos niveles inclusión de torta de raps (*Brassica napus*).

<i>Parámetros</i>	<i>Control</i>	<i>Torta de raps</i>		
		<i>R10</i>	<i>R20</i>	<i>R30</i>
Retención N (%)	31,7 ^a ±2,5	24,5±2,6	21,2±2,0	16,1±2,7
Retención P (%)	16,3 ^a ±2,3	13,8 ^a ±3,0	9,5±2,0	5,1±1,3

Los valores son el promedio con un desviación estándar (n = 3 réplicas).

Valores con superíndices no etiquetados con la letra *a* denotan diferencias significativas (P<0.05), con el tratamiento control, (Dunnnett).

Storebakken *et al.*, (2000a), revela una reducción del contenido de Ca y P en carcasas de salmón del Atlántico con altas inclusiones de harina de soya y algodón, mientras que contenidos de Mg, K, Fe, Zn y Mn en las carcasas no muestran cambios marcados, sin embargo inclusiones limitadas de estos ingredientes (300 g kg⁻¹) no manifestaron diferencias en crecimiento y composición mineral de la carcasa, proponiendo que esta reducción de Ca y P, se deba probablemente a la presencia de ácido fítico. Similares comportamientos fueron encontrados por Vielma *et al.*, (2000) en trucha arcoíris. A diferencia de lo ocurrido con *Heterobranchus longifilis*, donde las concentraciones de Ca, P, K, Zn y Mn en el organismo se redujeron significativamente en los peces alimentados con 600 g kg⁻¹ de harina de soya, debido probablemente a la unión del ácido fítico con estos minerales formando fitatos insolubles en el lumen intestinal, inhibiendo su absorción (Toko *et al.*, 2008b).

Mientras la absorción de Ca desde el agua es mayor y hace que los peces dependan menos del Ca dietario, el consumo de P desde el agua es menor y la dieta es su principal fuente (NRC, 1993; Lall y Lewis-McCrea, 2007). Por otra parte, la absorción de Ca desde el agua

está relacionada con la disponibilidad de P del pez. Sin embargo, en tilapia y salmónidos, está bien documentado que las concentraciones de Ca y P responden a los incrementos de los contenidos dietarios (Mbahinzireki *et al.*, 2001).

En el caso de la fibra, corresponde a componentes no degradables por las enzimas de secreción digestivas en monogástricos y tienen una función importante en la motilidad y el tránsito digestivo, generando una acción antinutricional que se manifiesta a dos niveles, por un lado contribuyen a una pérdida endógena de proteínas, grasas e hidratos de carbono, porque aumentan el volumen de la fracción no digerible y por otro lado, disminuyen la disponibilidad digestiva de minerales ya que reducen la absorción de hierro, calcio, zinc y cobre (Pointillart y Gueguen, 1992). No obstante los tratamientos tecnológicos, como descascarado y la utilización de altas temperaturas y solventes orgánicos durante la extracción del aceite en el caso del raps, permiten la disminución del contenido de inhibidores de proteasas, principalmente inhibidores de tripsina, glucosinolatos (GLS), fibra, saponinas y taninos, los llamados factores antinutricionales (FAN) (Glencross *et al.*, 2004a; Gatlin *et al.*, 2007).

El ácido fitico como ya se ha dicho es otro factor anti-nutricional presente en harinas de semillas oleaginosas, está presente en soya (10-15 g kg⁻¹) y canola (50-70 g kg⁻¹) (Francis *et al.*, 2001). Hasta el 70 % del P en harinas de semillas oleaginosas es almacenado en la forma de fitato (Cao *et al.*, 2007; Gatlin *et al.*, 2007) y es prácticamente no disponible para monogástricos y animales agastricos ya que carecen de fitasa intestinal para la hidrólisis de fitato durante la digestión (Cao *et al.*, 2007). Por lo tanto, la mayor parte del P-fitato se descarga finalmente en el agua, reflejando como consecuencia la contaminación del medio ambiente.

El tratamiento con fitasa ha sido el método más comúnmente aplicado en los alimentos acuícolas, especialmente cuando se utiliza soya o canola como sustituto de harina de pescado; En otros monogástricos como porcinos disminuyó hasta 26 % la excreción fecal de P (Agudelo *et al.*, 2010). Estudios similares han demostrado que ingredientes vegetales incubados con fitasas mejoran la utilización de minerales y disminuyen la descarga de fósforo en *Cyprinus carpio* (Nwanna, 2007), al igual que la fermentación de harina de soya con *Aspergillus usami*, que mejora la disponibilidad de fósforo de la harina de soya en pollos sin necesidad de suplemento de fósforo inorgánico (Matsui *et al.*, 1996).

Otra opción para mejorar la asimilación mineral, es la adición de AA limitantes en dietas para peces, práctica que mejora en forma significativa el crecimiento cuando se utilizan altos niveles de proteínas vegetales en las dietas para las especies acuáticas (Gaylord y Barrows, 2009). La suplementación con un complejo arginina-inositol-silicato (ASI) en dietas con reemplazo parcial de ingredientes vegetales, mejora el contenido mineral de la

carcasa en trucha arcoíris y no impacta el consumo de alimento y ganancia de peso (Kucukbay, 2008).

Sajjadi y Carter, (2004) señalan que la fitasa incrementó la disponibilidad de fósforo, por lo tanto, una menor necesidad de añadir fósforo inorgánico a las dietas reduciendo los residuos de fósforo de las dietas a base de harina de raps para el salmón del Atlántico, adicionalmente Forster *et al.*, (1999) concluyen que la fitasa en la dieta tiene un gran potencial para mejorar la calidad nutritiva de los concentrados proteicos de canola y la disponibilidad de P-fitato, disminuyendo el impacto al medio ambiente en dietas para trucha arcoíris.

El presente estudio demostró que la torta de raps tuvo una sobreestimación de sus CDA por su alto contenido de fibra y el efecto de la metodología (*in vivo*) que en conjunto provocan una lixiviación de los nutrientes en el agua. Situación que es confirmada por su bajo comportamiento productivo, a pesar de sus altos valores de digestibilidad y consumo de alimento. Adicionalmente no mostro diferencias en la composición de la carcasa para los diferentes tratamientos, incluso una leve mejora a inclusiones limitadas (R10 y R20) del ingrediente. Por lo tanto puede llegar a ser una fuente de proteína vegetal alternativa a la harina de pescado, siempre y cuando se haga un uso juicioso de aditivos (por ejemplo, fitasas) y tecnologías de procesamiento del ingrediente (concentrado de proteína, aislado de proteína) que podrían mejorar su uso en alimentación para peces. Ya que posee una alta disponibilidad, bajo precio y óptima calidad de su proteína.

4. CONCLUSIONES

En relación a la digestibilidad de las tres fuentes de proteína vegetal ensayadas, el grano de lupino presenta los más bajos CDA, debido a su muy bajo contenido de almidón y alto contenido de oligosacáridos. La digestibilidad del grano de arveja para proteína y extracto etéreo, es sobreestimada debido al bajo contenido de estos nutrientes en el ingrediente y al alto contenido de carbohidratos, que aumenta el efecto de lixiviación de las muestras de heces que están en contacto con el agua. La torta de raps exhibe los mayores CDA, seguramente a su alto contenido de fibra, que aumenta el efecto de lixiviación en las muestras de heces que están en contacto con el agua. En general sus deficiencias o excesos de nutrientes en los ingredientes juegan un rol antinutricional, además del estado crudo en el caso del lupino y arveja. Por lo que el uso de tecnologías de procesamiento en los ingredientes y dietas es fundamental para aprovechar los nutrientes de mejor forma.

El comportamiento productivo y eficiencia del alimento de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas con dietas extruidas que contienen hasta 250 g kg⁻¹ de grano de lupino (*Lupinus albus*) y 50 g kg⁻¹ de grano de arveja (*Pisum sativum*), presentan el mejor rendimiento. Demostrando lo conveniente de la extrusión en las dietas, para disminuir los FAN de los ingredientes vegetales y aumentar la biodisponibilidad de los nutrientes en dietas para peces, ya que el lupino a pesar de obtener bajos CDA, muestra mejores rendimientos productivos y eficiencia del alimento que la arveja y torta de raps.

La composición de las carcasas y retención de N y P de los peces alimentados con lupino, muestran el mejor comportamiento, incluso los peces de los tratamientos L15 y L25 tienen una mejor composición de cenizas, Ca, P y retención de P que los peces control, logrando la mejor respuesta a la extrusión de las tres fuentes de proteína vegetal ensayadas. La composición de las carcasas y retención de N y P de los peces alimentados con arveja muestran la peor respuesta de las tres fuentes de proteína vegetal ensayadas, esto debido al bajo perfil proteico y lipídico del ingrediente, además de su bajo consumo por parte de los peces. En cuanto a la composición en las carcasas de los peces alimentados con torta de raps, es similar al lupino, incluso los peces de los tratamientos R10 y R20 tienen una mejor composición de cenizas, Ca y P que los peces control, debido a su buen perfil nutricional y elevado consumo, no obstante muestra una significativa baja en la retención de N y P en todas sus inclusiones, debido al alto consumo de alimento y contenido de fibra que aumenta conforme aumenta su inclusión.

En general el comportamiento productivo, eficiencia del alimento y composición de las carcasas es afectado por el tipo de proteína vegetal, su nivel de inclusión y los FAN asociados a cada uno de ellos, disminuyendo su rendimiento a medida que aumenta el nivel de inclusión, siendo definitivamente el lupino el ingrediente con más atributos para sustituir la harina de pescado en la dieta para truchas arcoíris.

BIBLIOGRAFIA

- Agudelo Trujillo, J.H., Lindemann, M.D. y Cromwell, G.L. 2010. Phosphorus utilization in growing pigs fed a phosphorus deficient diet supplemented with a rice bran product and amended with phytase. *Revista Colombiana Ciencias Pecuarias* 23(4): 429-443.
- Alarcón, P. 2000. Reemplazo parcial de la harina de pescado por lupino blanco (*Lupinus albus*) en dietas para salmón del Atlántico (*Salmo salar*) cultivado en agua dulce: Efecto del tratamiento aplicado al lupino. Memoria Ingeniero Acuicola. Universidad Católica de Temuco, Facultad de Recursos Naturales. Temuco, Chile. 76p.
- Allan, G.L., Rowland, S.J., Parkinson, S., Stone, D.A. and Jantrarotai, W. 1999. Nutrient digestibility for silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. *Aquaculture* 170(2):131-145.
- Allan, G.L., Parkinson, S., Booth, M.A., Stone, D.A., Rowland, S.J., Frances, J. and Warner-Smith, R. 2000. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch *Bidyanus bidyanus*: I Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*: 186(3): 293-310.
- Al-Marzooqil, W. and Wiseman, J. 2009. Effect of extrusion under controlled temperature and moisture conditions on ileal apparent amino acid and starch digestibility in peas determined with young broilers. *Animal Feed Science Technology* 153: 113-130.
- Alonso, R., Aguirre, A. and Marzo, F. 2000a. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Journal Agriculture Food Chemistry* 68(2): 159-165.
- Alonso, R., Grant, G., Dewey, P. and Marzo, F. 2000b. Nutritional assessment in vitro and in vivo of raw and extruded peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(6): 2286-2290.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist. 16th Edition. AOAC: Washington, DC, EEUU. 1018p.
- Aslaksen, M.A., Kraugerud, O.F., Penn, M., Svihus, B., Denstadli, V., Jorgensen, H.Y., Hillestda, M., Krogdahl, A. and Storebakken, T. 2007. Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseed, or cereals. *Aquaculture* 272: 541-555.
- Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 13: 265-272.

- Baeverfjord, G., Asgard, T. and Shearer, K.D. 1998. Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, parr and post-smolt. *Aquaculture Nutrition* 4: 1-11.
- Bangoula, D., Parent, J.P. and Vellas, F. 1993. Nutritive value of white lupin (*Lupinus albus* var Lutop) fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of extrusion cooking. *Reproduction Nutrition Development* 33: 325–334.
- Bendiksen, E., Berg, O., Jobling, M., Arneses, A. and Masoval, K. 2003. Digestibility, growth and nutrient utilization of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in relation to temperature, feed fat content and oil source. *Aquaculture* 224: 283–299.
- Booth, M., Allan, G., Frances, J. and Parkinson, S. 2001. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus* IV Effects of dehulling and protein concentration on digestibility of grain legumes. *Aquaculture* 196: 67-85.
- Borquez A., Serrano, E., Dantagnan, P., Carrasco, J. and Hernández, A. 2011. Feeding high inclusion of whole grain white lupin (*Lupinus albus*) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, nutrient digestibility, liver and intestine histology, and muscle fatty acid composition. *Aquaculture Research* 42: 1067–1078.
- Brandsen, M.; Carter, C. and Nowak, B. 2001. Effects of dietary protein source on growth, immune function, blood chemistry and disease resistance of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Animal Science* 73: 105-113.
- Brenes, A. y Brenes, J. 1993. tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: influencia sobre su valor nutritivo. IX Curso de especialización FEDNA. Barcelona, España, 8 y 9 de Noviembre de 1993. 32p.
- Buschmann, A.H., López, D.A. and Medina, A. 1996. A review of the environmental effects and alternative production strategies of marine aquaculture in Chile. *Aquacultural engineering* 15(6): 397-421.
- Bureau, D.P. and Cho, C.Y. 1999. Nutrition and feeding of fish. OMNR Fish Culture Course. University of Guelph. Guelph, Ontario, 21-25 June 1999.
- Burel, C., Boujard, T., Corraze, G., Kaushik, S.J., Boeuf, G., Mol, K.A., Van Der Geyten, S. and Kuhn, E.R. 1998. Incorporation of high levels of extruded lupin in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): nutritional value and effect on thyroid status. *Aquaculture* 163: 323–343.
- Burel, C., Boujard, T., Tulli, F. and Kaushik, S. 2000a. Digestibility of extruded peas, extruded lupin, and rapeseed meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 188: 285-298.

Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S., Boeuf, G., Van Der Geyten, S., Mol, K., Kühn, E., Quinsac, A., Krouti, M. and Ribaillier, D. 2000b. Potential of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilization and thyroid status. *Aquaculture* 188: 363-382.

Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S.J., Boeuf, G., Mol, K.A., Van Der Geyten, S. Darras, V.M., Kuhn, E.R., Pradet-Balade, B., Querat, B., Quinsac, A., Krouti, M. and Ribaillier, D. 2001. Effects of rapeseed meal glucosinolates on thyroid metabolism and feed utilization in rainbow trout. *General and comparative endocrinology* 124: 343-358.

Burel, C. and Kaushik, S.J. 2008. Use of rapeseed/canola in diets of aquaculture species. pp.343-403. In: *Alternative protein sources in aquaculture diets*. Haworth Press, Taylor and Francis Group, New York, EEUU.

:

Carter, C. and Hauler, R. 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* 185: 299-311.

Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z. and Li, D. 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and Microbial Technology* 40(4): 497-507.

Cheng, Z.J. and Hardy, R.W. 2003. Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture nutrition* 9(2): 77-83.

Cho, C., Cowey, C. and Watanabe, T. 1985. *Finfish Nutrition in Asia. Methodological approaches to research and development*. International Development Research Centre (IDRC). Ottawa, Tokyo. 154p.

Corraze, G. 1999. Nutrition lipidique. pp.147-169. In: Guillaume, J.; Kaushik, S.; Bergot, P. et Metailler, R. (ed). *Nutrition et alimentation des poissons et crustacés*: Editions INRA-IFREMER, Paris, France.

Dalsgaard, J., Ekmann, K.S., Pedersen, P.B. and Verlhac, V. 2009. Effect of supplemented fungal phytase on performance and phosphorus availability by phosphorus-depleted juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and on the magnitude and composition of phosphorus waste output. *Aquaculture* 286(1): 105-112.

Davis, D., Arnold, C. and Mccallum, I. 2002. Nutritional value of feed peas (*Pisum sativum*) in practical diet formulations for *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 8 (2): 87-94.

Debnath, D., Sahu, N.P., Pal, A.K., Jain. K.K., Yengkokpam, S, and Mukherjee, S.C. 2005. Mineral status of pangasius pangasius (Hamilton) fingerlings in relation to

supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. *Aquaculture Research* 36(4): 326-335.

De la Higuera, M., García-Gallego, M., Sanz, A., Cardenete, G., Suárez, M.D., and Moyano, F.J. 1988. Evaluation of lupin seed meal as an alternative protein source in feeding of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 71(1): 37-50.

Drew, M.D., Borgeson, T.L. and Thiessen, D.L. 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Animal Feed science and Technology* 138(2): 118-136.

Eales, J. G. 1998. Effect of extrusion processing on the nutritive value of canola meal for chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in seawater. *Aquaculture nutrition* 4(2): 115-122.

Enami, H.R. 2011. A review of using canola/rapeseed meal in aquaculture feeding. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 6(1): 22-36.

FAO. 2016. Estadísticas de pesca y acuicultura. Producción mundial de acuicultura 1950-2014 (FishstatJ). In: FAO Departamento de Pesca y Acuicultura (en línea). Roma. Publicación 2016. <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en>

FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma, Italia. 253p. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3720s.pdf> Leído el 29 de septiembre de 2015.

Farhangi, M. and Carter, C.G. 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). *Aquaculture Research* 32: 329-340.

Ferrando, R. and Blum, J.C. (Ed) 1989. L'alimentation des animaux monogastriques: porc, lapin, volaille. 2nd ed. Institut national de la recherche agronomique (INRA). Département de l'élevage des monogastriques. Paris, France. 293p.

Fontainhas-Fernandes, A., Gomes, E., Reis-Henriques, M.A., and Coimbra, J. 1999. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. *Aquaculture International* 7(1): 57-67.

Forster, I., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Rowshandeli, M. and Parr, J. 1999. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11 °C fresh water. *Aquaculture* 179(1): 109-125.

Francis, G., Makkar, H.P. and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199(3): 197–227.

Furukawa, A. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Nippon Suisan Gakkaishi* 32: 502-506

Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, J.E., Stone, D., Wilson, R. and Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38(6): 551-579.

Gaylord, T.G., and Barrows, F.T. 2009. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*), feeds. *Aquaculture* 287(1): 180–184.

Geurden, I., Borchert, P., Balasubramanian, M. N., Schrama, J. W., Dupont-Nivet, M., Quillet, E. and Médale, F. 2013. The positive impact of the early-feeding of a plant-based diet on its future acceptance and utilisation in rainbow trout. *Plos one* 8(12): e83162.

Glencross, B., Curnow, J., Hawkins, W. and Felsing, M. 2002. Evaluation of yellow lupin (*Lupinus luteus*) meal as an alternative protein resource in diets for sea-cage reared Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the world aquaculture society* 33(3): 287-296.

Glencross, B.D., Boujard, T. and Kaushik, S.J. 2003a. Influence of oligosaccharides on the digestibility of lupin meals when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 219(1): 703 – 713.

Glencross, B., Curnow, J., Hawkins, W., Kissil, G.W.M. and Peterson, D. 2003b. Evaluation of the feed value of a transgenic strain of the narrow-leaf lupin (*Lupinus angustifolius*) in the diet of the marine fish, *Pagrus auratus*. *Aquaculture Nutrition* 9(3): 197–206.

Glencross, B.D., Curnow, J.G. and Hawkins, W.E. 2003c. Evaluation of the variability in chemical composition and digestibility of different lupin (*Lupinus angustifolius*) kernel meals when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal feed science and technology* 107(1): 117–128.

Glencross, B.D., Hawkins, W.E. and Curnow, J.G. 2004a. Nutritional assessment of Australian canola meals. I. Evaluation of canola oil extraction method and meal processing condition on the digestible value of canola meals fed to the red seabream (*Pagrus auratus*, Paulin). *Aquaculture Research* 35: 15–24.

Glencross, B.D., Hawkins, W.E. and Curnow, J.G. 2004a. Nutritional assessment of Australian canola meals. II. Evaluation of the influence of canola oil extraction method on the protein value of canola meals fed to the red seabream (*Pagrus auratus*, Paulin). *Aquaculture Research* 35: 25–34.

Glencross, B, Evans, D, Hawkins, W. and Jones, B. 2004b. Evaluation of dietary inclusion of yellow lupin (*Lupinus luteus*) kernel meal on the growth, feed utilization and tissue histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 235: 411-422.

Glencross, B.D., Carter, C.G., Duijster, N., Evans, D.R., Dods, K., McCafferty, P., Hawkins, W.E., Maas, R. and Sipsas, S. 2004c. A comparison of the digestive capacity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed a range of plant protein products. *Aquaculture* 237(1): 333–346.

Glencross, B. and Carter, C. 2007. Field peas and Aquafeeds. pp 42-49. In: Glencross, B.D. (Ed). *Harvesting the benefits of grain in aquaculture feeds*. Proceedings of a workshop, 13 February 2007. Fisheries occasional publication n° 41, department of fisheries. Western, Australia. 102p.

Glencross, B.D., Booth, M. and Allan, G.L. 2007. A feed is only as good as its ingredients—a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition* 13(1): 17-34.

Glencross, B.D., Hawkins, W.E., Evans, D., Rutherford, N., McCafferty, P., Dods, K., Karopoulos, M., Veitch, C., Sipsas, S. and Buirchell, B. 2008a. Variability in the composition of lupin (*Lupinus angustifolius*) meals influences their digestible nutrient and energy value when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 277(3): 220–230.

Glencross, B.D., Hawkins, W.E., Evans, D., Rutherford, N., McCafferty, P., Dods, K. and Sipsas, S. 2008b. Assessing the implications of variability in the digestible protein and energy value of lupin kernel meals when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*: 277(3): 251–262.

Glencross, B.D., Rutherford, N.R. and Hawkins, W.E. 2011. A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin kernel meals in extruded diets. *Aquaculture Nutrition* 17(2): 317–325.

Gomes, E.; Corraze, G. and Kaushik, S. 1993. Effect of dietary incorporation of a coextruded plant protein (rapeseed and peas) on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* (113): 339-353

Gomes, E.F., Rema, P. and Kaushik, S.J. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins of the diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture* 130(2): 170-186.

Gouveia, A.; Oliva-Teles, A.; Gomes, E. and Rema, P. 1993. Effect of cooking/expansion of three legume seeds on growth and food utilization by rainbow trout. pp.933-937 In: *Fish Nutrition in Practique*. Paris, France, June 24-27 1991, Biarritz, INRA, Paris, France.

Guillaume, J. y G. Choubert. 2003. Fisiología digestiva y digestibilidad de los nutrientes en los peces. pp. 53-86. In: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Munid-Prensa, Madrid, España. 475p.

Guillaume, J. y R. Métailler. 2003. Factores Antinutricionales. pp.353-365. In: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Munid-Prensa, Madrid, España. 475p.

Guillaume, J. y R. Métailler. 2003. Materias primas y aditivos utilizados en la alimentación de los peces. pp. 333-353. In: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Munid-Prensa, Madrid, España. 475p.

Hardy, R.W. and Sullivan, C.V. 1983. Canola meal in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) production diet. *Canadian Journal of Fisheries and Aquaculture Science* 40(3): 281-286.

Hardy, R.W. 1998. Phytate. *Aquaculture Magazine* 24(6): 77-80.

Hardy, R.W. 2002. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: Webster, C.D. and Lim, C. (eds). *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. pp. 184–203. CABI Publishing, New York, USA. 421p.

Hardy, R.W. and Barrows, F.T. 2002. Diet formulation and manufacture. pp. 505-600. In: Halver, J.E. and Hardy, R.W. (Eds.). *Fish nutrition*. 3nd ed. Academic Press, New York, USA.

Hernandez, A., Satoh, S., Kiron, V., and Watanabe, T. 2004. Phosphorus retention efficiency in rainbow trout fed diets with low fish meal and alternative protein ingredients. *Fisheries science* 70(4): 580-586.

Hertrampf, J.W. and Piedad-Pascual, F. 2000. *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. 573p.

Higgs, D.A., Fagerlund, U.H., McBride, J.R., Plotnikoff, M.D., Dosanjh, B.S., Markert, J.R. and Davidson, J. 1983. Protein quality of altex canola meal for juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) considering dietary protein and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine content. *Aquaculture* 34(3): 213-238.

- Hillestad, M., Johnsen, F., Asgard, T. 2001. Protein to carbohydrate ratio in high-energy diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture research* 32(7): 517–529.
- Hua, K., Liu L. and Bureau, D.P. 2005. Determination of phosphorus fractions in animal protein ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(5): 1571-1574.
- Hua, K. and Bureau, D.P. 2006. Modeling digestible phosphorus content of salmonid fish feeds. *Aquaculture*. 254(1): 455-465.
- Hughes, S.G. 1988. Assessment of lupin flour as a diet ingredient for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 71(4): 379–385.
- Hughes, S.G. 1991. Use of lupin flour as a replacement for full-fat soy in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 93(1): 57–62.
- Jahan, P., Watanabe, T., Satoh, S., and Kiron, V. 2001. Formulation of low phosphorus loading diets for carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research* 32: 361 - 368.
- Kaushik, S.J. 2003. Nutrición glucídica: interés y límites del aporte de glúcidos. pp. 169-182. In: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Mundi-Prensa, Madrid, España. 475p.
- Kaushik, S.J. 2003. Nutrición mineral. pp. 209-222. In: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Mundi-Prensa, Madrid, España. 475p.
- Kaushik, S.J., Coves, D., Dutto, G. and Blanc, D. 2004. Almost total replacement of fishmeal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 230(1): 391–404.
- Keembiyehetty, C.N. and De Silva, S.S. 1993. Performance of juvenile *Oreochromis niloticus* (L.) reared on diets containing cowpea, *Vigna catieng*, and black gram, *Phaseolus mungo*, seeds. *Aquaculture* 112(2): 207–215.
- Kissil, G.W., Lupatsch, I., Higgs, D.A. and Hardy, R. 2000. Dietary substitution of soy and rapeseed protein concentrates for fish meal, and their effects on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 31(7): 595-601.
- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. and Baeverfjord, G. 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture nutrition* 9(6): 361-371.
- Koko, G.K., Sarker, P.K., Proulx, É. and Vandenberg, G. W. 2010. Effects of alternating feeding regimes with varying dietary phosphorus levels on growth, mineralization,

phosphorus retention and loading of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic living resources 23(03): 277-284.

Kucukbay, F. Z., Yazlak, H., Sahin, N., Akdemir, F., Orhan, C., Juturu, V. and Sahin, K. 2008. Effects of dietary arginine silicate inositol complex on mineral status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition 14(3): 257-262

Lall, S.P. and Lewis-McCrea, L.M. 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish—an overview. Aquaculture 267(1): 3-19.

Lim, C., Klesius, P.H. and Higgs, D.A. 1998. Substitution of canola meal for soybean meal in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Journal of the World Aquaculture Society 29(2): 161–168.

Luo, L., Xue, M., Wu, X., Cai, X., Cao, H., and Liang, Y. 2006. Partial or total replacement of fishmeal by solvent-extracted cottonseed meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 12(6): 418-424.

Lupatsch, I., Kissil, G.W., Sklan, D. and Pfeffer, E. 1997. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their predictability in compound diets for gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition 3(2): 81–89.

Matsui, T., Hirabayashi, M., Iwama, Y., Nakajima, T., Yano, F., and Yano, H. 1996. Fermentation of soya-bean meal with *Aspergillus usami* improves phosphorus availability in chicks. Animal feed science and technology 60(1): 131-136.

Mbahinzireki, G.B., Dabrowski, K., Lee, K.J., El-Saidy, D. and Wisner, E.R. 2001. Growth, feed utilization and body composition of tilapia (*Oreochromis* sp.) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system. Aquaculture Nutrition 7(3): 189-200.

Melcion, J.P. 2004. Fabricación de piensos. pp.383-397. In: Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. y Métailler, R. Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Mundi-Prensa, Madrid, España. 477p.

Melcion, J.P. and van der Poel, A.F.B. 1993. Process technology and antinutritional factors: principles, adequacy and process optimization. Pp 419–434. In: Van der Poel, A.F.B., Huisman, J., Saini, H.S. (Eds.), Second International Workshop on Antinutritional Factors (ANFs.) in Legume Seeds, Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. 1–3 December, 1993. EAAP Publication. Wageningen, Netherlands.

Morales, A.E.; Cardenete, G.; de la Higuera, M. and Sanz, A. 1994. Effects of dietary protein source on growth, feed conversion and energy utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 124(1): 117-126.

- Mundheim, H., Aksnes, A., Hope, B. 2004. Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. *Aquaculture* 237(1): 315–331.
- Mühlhauser, H.A., Peñaloza, R., Castro, H., Díaz, P., and Muñoz, J. 1993. Producción secundaria bacteriana relacionada con cultivo de salmón en jaula en ambiente marino y lacustre de la isla de Chiloé. X Región, Chile. 28(2): 287-300.
- Mwachireya, S.A., Beames, R.M., Higgs, D.A., and Dosanjh, B.S. 1999. Digestibility of canola protein products derived from the physical, enzymatic and chemical processing of commercial canola meal in of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) held in fresh water. *Aquaculture Research* 5(2): 73-82.
- National Research Council (NRC). 1993. Nutrient requirements of fish. National academy press. Washington, DC, USA.
- Nwanna, L.C., Eisenreich, R. and Schwarz, F.J. 2007. Effect of wet-incubation of dietary plant feedstuffs with phytases on growth and mineral digestibility by common carp (*Cyprinus carpio* L). *Aquaculture*, 271: 461-468.
- Ogino, C. 1980. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 46(2): 171-174.
- Overland, M., Sorensen, M., Storebakken, T., Penn, M., Krogdahl, A., Skrede, A. 2009. Pea protein concentrate substituting fish meal or soybean meal in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*)—effect on growth performance, nutrient digestibility, carcass composition, gut health, and physical feed quality. *Aquaculture* 288(3): 305–311.
- Overturf, K., Raboy, V., Cheng, Z.J., and Hardy, R.W. 2003. Mineral availability from barley low phytic acid grains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture Nutrition* 9(4): 239-246.
- Penn, M.H., Bendiksen, E.A., Campbell, P. and Krogdahl, A. 2011. High level of dietary pea protein concentrate induces enteropathy in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 310(3): 267-273.
- Petterson, D. 2000. The use of lupin in feeding system. *Asian Australian journal of animal science*. 13 (6): 861-882.
- Pointillart, A. and Gueguen, L. 1992. Influence des fibres alimentaires sur la biodisponibilité des minéraux. *Les Cahiers de l'Ensbana* 8: 157-182.
- Pokniak, J., Cornejo, S., Galleguillos, C., Larrain, C., y Battaglia, J. 1999. Efectos de la extrusión o peletización de la dieta de engorda sobre la respuesta productiva de la trucha

arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) tamaño plato. Archivos de medicina veterinaria 31(1): 141-150.

Refstie, S., Korsoen, O.J., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Lein, I. and Roem, A. 2000. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 190(1): 49-63.

Robaina, L. 1998. Utilización nutritiva de fuentes de proteína alternativas a la harina de pescado en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*). Informes técnicos Instituto Canario de Ciencias Marinas (4). Gran Canaria, España. 195p.

Russell, P., Davies, S., Gouveia, A. and Tekinay, A. 2001. Influence of dietary starch source on liver morphology in juvenile cultured European sea bass (*Dicentrarchus Labrax* L.). Aquaculture research 32: 306-314.

Sajjadi, M. and Carter, C.G. 2004. Dietary phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola meal-based diet. Aquaculture 240(1): 417-431.

Sarker, P. K., Fournier, J., Boucher, E., Proulx, E., de la Noüe, J., and Vandenberg, G.W. 2011. Effects of low phosphorus ingredient combinations on weight gain, apparent digestibility coefficients, non-fecal phosphorus excretion, phosphorus retention and loading of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Animal feed science and technology 168(3): 241-249.

Satoh, S., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Hardy, R.W., Eales, J.G. and Deacon, G. 1998. Effect of extrusion processing on the nutritive value of canola meal for chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in seawater. Aquaculture Nutrition 4: 115-122

Satoh, S., Hernández, A., Tokoro, T., Morishita, Y., Kiron, V. and Watanabe, T. 2003. Comparison of phosphorus retention efficiency between rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a commercial diet and a low fish meal based diet. Aquaculture 224(1): 271-282.

Serrano, E., 2004. Reemplazo parcial de harina de pescado por harina de lupino blanco (*lupinus albus*) en dietas extruidas para trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): efectos sobre los índices productivos y la composición de ácidos grasos en el músculo. Facultad de Recursos Naturales. Universidad Católica de Temuco. Temuco, Chile. 62p.

Serrano, E. 2011. Biological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after dietary intake of lupin seeds and quinolizidine alkaloids. PhD Thesis. Department of Animal and Aquacultural Sciences. Norwegian University of Life Sciences, Norway. 62p.

Shearer, K. 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. Aquaculture 119(1): 63-88.

- Sorensen, M., Ljokjel, K., Storebakken, T., Shearer, K.D. and Skrede, A. 2002. Apparent digestibility of protein, amino acids and energy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a fishmeal based diet extruded at different temperatures. *Aquaculture* 211(1): 215–225.
- Soto, D. and Norambuena, F. 2004. Evaluation of salmon farming effects on marine systems in the inner seas of southern Chile: a large-scale mensurative experiment. *Journal of Applied Ichthyology* 20(6): 493-501.
- Storebakken, T., Shearer, K.D. and Roem, A.J. 1998a. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 161(1): 365-379.
- Storebakken, T., Shearer, K., Resftie, S., Lagocki, S. and McCool, J. 1998b. Interactions between salinity, dietary carbohydrate source and carbohydrate concentration on the digestibility of macronutrients and energy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 163(3): 347–359.
- Storebakken, T., Shearer, K.D. and Roem, A.J. 2000a. Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon *Salmo salar* fed diets with fishmeal and soy-protein concentrate as the main sources of protein. *Aquaculture Nutrition* 6(2): 103–108.
- Storebakken, T., Shearer, K., Baeverfjord, G., Nielsen, B., Asgard, T., Scott, T. and De Laporte., A. 2000b. Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture* 184(1): 115–132.
- Sugiura, S.H., Dong, F.M., and Hardy, R.W. 2000a. A new approach to estimating the minimum dietary requirement of phosphorus for large rainbow trout based on non-fecal excretions of phosphorus and nitrogen. *The Journal of nutrition* 130(4): 865-872.
- Sugiura, S.H., Dong, F.M. and Hardy, R.W. 2000b. Primary responses of rainbow trout to dietary phosphorus concentration. *Aquaculture Nutrition* 6(4): 235-245.
- Sugiura, S.H., Hardy, R.W. and Roberts, R.J. 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish. *Journal of Fish Diseases*, 27(5): 255-265.
- Sukumaran, K., Pal, A.K., Sahu, N.P., Debnath, D., and Patro, B. 2009. Phosphorus requirement of Catla (*Catla catla* Hamilton) fingerlings based on growth, whole-body phosphorus concentration and non-faecal phosphorus excretion. *Aquaculture Research* 40(2): 139-147.
- Tacon, A.G. and Forster, I.P. 2003. Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture* 226: 181–189.

- Tacon, A.G.J. and Metian, M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285(1): 146-158.
- Thiessen, D., Campbell, G. and Adelizi, P. 2003. Digestibility and growth performance of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with pea and canola. *Aquaculture Nutrition* 9(2): 67-75.
- Thiessen, D.L., Maenz, D.D., Newkirk, R.W., Classen, H.L. and Drew, M.D. 2004. Replacement of fishmeal by canola protein concentrate in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 10: 379-388.
- Toko, I., Fiogbe, E.D. and Kestemont, P. 2008a. Mineral status of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed diets containing graded levels of soybean or cottonseed meals. *Aquaculture* 275 (1): 298-305.
- Toko, I., Fiogbe, E.D. and Kestemont, P. 2008b. Growth, Feed efficiency and body mineral composition of juvenile vundu catfish (*Heterobranchus longifilis*, Valenciennes 1840) in relation to various dietary levels of soybean or cottonseed meals. *Aquaculture Nutrition* 14(3): 193-203.
- Toledo, I., Von Baer, E., Olivares, E., Soto, P., Manríquez, A., Harrinson, C., Mex, D., Garrido, F. 2004. Lupino dulce. Leguminosa en la producción de alimentos para salmónidos. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile. 41p.
- Trugo, L.C., Donangelo, C.M., Trugo, N.M.F. and Bach Knudsen, K.E. 2000. Effect of heat treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(6): 2082–2086.
- Vielma, J. and Lall, S.P. 1998. Control of phosphorus homeostasis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in fresh water. *Fish Physiology and Biochemistry* 19(1): 83-93.
- Vielma, J., Mäkinen, T., Ekholm, P. and Koskela, J. 2000. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture* 183(3): 349-362.
- Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73(1): 3-15.
- Watanabe, T. (ed). 1988. Fish nutrition and mariculture. JICA textbook, the general aquaculture course. Kanagawa International Fisheries Training Centre. Japan International Cooperation Agency, Tokyo, 233p.

Wilson, R.P. 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124(1): 67-80.

Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* 151(1): 185–207.

Watanabe, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68(2): 242–252.

Zhang, Y., Overland, M., Sorensen, M., Penn, M., Mydland, L.T., Shearer, K.D. and Storebakken, T. 2012a. Optimal inclusion of lupin and pea protein concentrates in extruded diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 344: 100-113.

Zhang, Y., Overland, M., Xie, S., Dong, Z., Lv, Z., Xu, J. and Storebakken, T. 2012b. Mixtures of lupin and pea protein concentrates can efficiently replace high-quality fish meal in extruded diets for juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*). *Aquaculture* 354: 68-74.