
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

REPORTE FINAL DE SERVICIO SOCIAL
POR INVESTIGACION

**Efecto del ácido araquidónico (ARA, 20:4n6)
en el desarrollo y metabolismo de lípidos en
juveniles de camarón blanco del Pacífico
(*Litopenaeus vannamei*).**

QUE PRESENTA EL ALUMNO (A):

Krishna Flores Galvez.

Matrícula
2143063032

ASESORES

ASESOR INTERNO: Dr. MARIA DEL CARMEN MONROY DOSTA
Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. Número económico: 28906

ASESOR EXTERNO: Dr. JOSÉ ANTONIO MATA SOTRES
Instituto de Investigaciones Oceanológicas – Universidad Autónoma de Baja California

México, D.F.

Diciembre 2019

DEDICATORIA

A mi padre Nabor Elias Flores Zavaleta, que es mi mayor ejemplo y, siempre está en mi mente.

A mi Madre Francisca Galvez Flores, y mis hermanos Gabriela, Lucia, Saddai, Uriel y Binael, no imagino mi vida sin ustedes los amo inmensamente.

Y a mis tres monstros que solo me han dado felicidad desde que están conmigo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis asesores la Dra. Carmen Monroy, por el apoyo y la confianza, además de sus palabras de aliento que siempre me animan y a el Dr. José Antonio Mata, por la amabilidad, confianza y todo lo que me ha enseñado durante mi estancia.

A Aurora Tinajero por la paciencia y la dedicación que tuvo para enseñarme.

A la Dra. María Teresa Viana, por permitirme trabajar y ser parte de su laboratorio.

A el Dr. Bruno que confió en mi para llevar a cabo el experimento y por todo lo que aprendí de él.

A Vita y André por todo lo que me enseñaron y permitir trabajar con ellos.

Le agradezco a todos, por lo grande que son, tanto profesional como personas, son un ejemplo a seguir.

A la Universidad Autónoma de Baja California, por las instalaciones en las que trabaje.

Brenda por toda su ternura, amistad y bondad hacia mí.

Kristel, siempre me hablas con la verdad, y haces que me de cuenta de mis errores

Agradezco inmensamente a Lore que siempre me ayuda, y apoya de todas las formas posibles.

A Sol que, nunca deja que me haga para atrás y por todos los ánimos que me da.

También agradezco a todos mis amigos, de la carrera y del trabajo, sin su apoyo no hubiera podido superar los obstáculos que se me presentaron: Karla, Jorge, Joselyn, Mariana, Ailyn, Joss e Iliana mi amiga de toda la vida.

A Raúl, lo que significas para mí siempre me ha hecho seguir adelante y mejorar, en todos los aspectos.

Agradezco a todas las personas que directa e indirectamente hicieron que este trabajo fuera posible.

Un agradecimiento especial a mi hermana Saddai que me ha apoyado en cada momento e incondicionalmente sin ti no hubiera podido.

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto del ácido araquidónico (ARA) sobre el crecimiento, la composición de ácidos (AG) grasos de hepatopáncreas y musculares (FA), de juveniles de *Litopenaeus vannamei* en un experimento nutricional de seis semanas. Se elaboró una dieta baja en grasa basal y posteriormente se recubrió con diferentes fuentes de AG, distintos niveles de ARA (0 %, 0.3 % y 0.6 %), aceite de pescado y aceite de soya (dieta de control 50:50). Los juveniles de *L. vannamei* (1.10 ± 0.22 g) se dividieron aleatoriamente en doce tanques con 30 organismos cada uno. Los organismos fueron alimentados tres veces al día con el 8 % de la biomasa total del tanque de cada dieta experimental. Los resultados mostraron que los animales alimentados con una dieta que contenía 0.3 % de ARA presentaron un peso final más bajo en comparación con el control. Los diferentes niveles de inclusión de ARA en las dietas experimentales influyeron directamente en el perfil de AG de los tejidos con niveles más bajos de ARA en el control y 0 % seguido de las dietas experimentales 0.3 % y 0.6 %. Los niveles de ácido docosahexaenoico (DHA) fueron más altos en el control en comparación con los otros grupos experimentales en músculo y hepatopáncreas. La inclusión de ARA en las dietas no dio resultados positivos, lo anterior puede deberse a las condiciones ambientales del estudio sin embargo estos resultados pueden contribuir directamente a la fabricación de dietas específicas de bajo costo y más sostenibles para juveniles de *L. vannamei*.

PALABRAS CLAVE

Ácido araquidónico (ARA), camarón blanco, dietas, desarrollo, metabolismo.

INDICE

1.-INTRODUCCIÓN	9
2.-ANTECEDENTES	11
3.1. Objetivo general	14
3.2. Objetivos particulares	14
5.- METODOLOGÍA	15
4.1. Elaboración de las dietas	16
4.2. Desempeño y toma de muestras	18
4.4. Ácidos grasos (AG)	19
4.5. Análisis estadístico	19
6.- DISCUSIÓN	24
7.-CONCLUSIÓN	27
9.-ANEXOS	35

INDICE IMAGENES Y TABLAS

Tabla 1 Formulación y composición proximal de las dietas experimentales (g / kg ¹).	17
Tabla 2. Composición de ácidos grasos de las dietas experimentales	18
Tabla 3. Efecto de diferentes niveles de ARA en el rendimiento del crecimiento y la supervivencia de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentados con dietas experimentales. 20	
Tabla 4. Composición de ácidos grasos de hepatopáncreas de camarones alimentados con dietas que contienen diferentes niveles de ARA.	22
Tabla 5. Composición de ácidos grasos del músculo de camarones alimentados con dietas adicionadas con diferentes niveles de ARA.	23
Tabla 6. Composición proximal de los camarones completos alimentados con dietas que contienen distintos niveles de ARA.	24
Imagen 1. Mantenimiento (limpieza, medición de parámetros, monitoreo de los .	35
Imagen 2. Uso de UDK 129, Velp, Italia para el análisis de proteína cruda, mediante el método de micro-Kjeldahl.	35
Imagen 3. Inyección de Ácidos Grasos en cromatógrafo.	36
Imagen 4. Valoración de reactivos para análisis proximales.	36
Imagen 5. Preparación de reactivos para análisis bromatológicos (proteína cruda).	37
Imagen 6. Picos de los resultados de Ácidos grasos.	37

1.-INTRODUCCIÓN

En la actualidad la producción de camarón se ha consolidado, como una actividad muy importante dentro de la acuicultura, provee proteína animal de excelente calidad y alto valor nutricional, aportando al mantenimiento de la seguridad alimentaria mundial. Para tener practicas más competentes, es necesario optimizar el rendimiento de los camarones, principalmente en el alimento, si se tiene en cuenta que este representa entre el 50% y 70% de los costos de producción, es importante garantizar que este insumo, sea lo más eficiente posible (Faillace y Vergara 2016).

La harina de pescado es un producto que por su alto valor proteico es una de las principales fuentes utilizadas para la producción de alimento balanceado, para la acuicultura, ya que representa entre el 30% y 50% de la formula de estos, provocando que 30 millones de toneladas de pesca sean convertidas en harina de pescado haciendo que la acuicultura sea una actividad poco rentable, además de traer problemas ambientales por la presión hacia los ecosistemas marinos (R. W. Hardy. 2001).

La acuicultura de camarón enfrenta retos importantes entre los que se destaca, la maximización eficiente de la utilización de los nutrientes de los alimentos. La utilización de acidos grasos ha sido, una alternativa en la dieta de especies marinas porque proveen una concentrada fuente de energía que es normalmente bien utilizada. Además, existen ácidos grasos esenciales, los cuales no pueden ser sintetizados por los peces siendo utilizados eficientemente para obtener energía. Algunas especies marinas se han mostrado beneficiados por la presencia de una fuente de ácido graso en la dieta durante el desarrollo larval, aumentando el crecimiento de estas (Gatlin III M. D. 2000).

Además de su importancia energética los ácidos grasos de las series n-3 y n-6 son precursores de eicosanoides, que juegan un papel relevante en la regulación del sistema inmunológico, mediante su efecto directo en células del sistema inmune,

como son linfocitos y macrófagos, o por su efecto indirecto a través de las citoquinas. En peces está demostrado que los eicosanoides regulan la respuesta inmune de la misma manera que en mamíferos. Existiendo una relación directa entre el tipo de lípidos en la dieta y las consecuencias derivadas de la acción de un estresante en peces de cultivo especulando con la posibilidad de que los ácidos grasos de la dieta influenciaran el estatus de eicosanoides, propiciando la resistencia a condiciones estresantes, como la manipulación y el traslado (Montero, D. et al 2000).

Por estos motivos, la sustitución de ácidos grasos, por harina de pescado, en dietas de otras especies acuícolas en este caso el camarón blanco, ayudara evitando enfermedades y mortalidad por estrés dentro del cultivo.

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es comprobar si la sustitución de aceite de pescado por ciertos ácidos grasos como DHA (Ácido docosahexaenoico), EPA (Ácido eicosapentaenoico) enriquecidos con diferentes concentraciones de ARA (Ácido Araquidónico) en dietas *L. vannamei*, favorecerá al desarrollo y supervivencia de juveniles de *L. vannamei* en condiciones de cultivo.

2.-ANTECEDENTES

Los aceites marinos que contienen ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) de las series n-3, tal como ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), han mostrado ser muy nutritivos satisfaciendo los requerimientos en ácidos grasos esenciales de los organismos marinos, dada la limitada capacidad de éstos para alargar y desaturar cadenas de ácidos grasos más cortas (Gatllin, 2000).

Kanzawa (2000), en su trabajo Nutrición de larvas de peces menciona, los efectos de EPA y DHA sobre el crecimiento de larvas del lenguado japonés (*P. olivaceus*) durante 30 días. La fuente de proteína en la dieta fue la caseína y el aglutinante fue la zeína. La pureza de EPA y DHA fue de 77.15 % y 81.8 %, respectivamente. Las dietas contenían ya sea EPA o DHA a niveles de 0.5, 1.0, y 2.0 %. Las larvas alimentadas con las dietas que contenían DHA crecieron más que las alimentadas con dietas conteniendo EPA. El crecimiento, la sobrevivencia y la vitalidad de larvas alimentadas con la dieta conteniendo 5.0 % de lecitina de soya fue superior a aquellas alimentados con las dietas que contenían 0, 3.0 o 7.0 % de lecitina de soya y alimento vivo (rotíferos y *Artemia*). Los resultados sugieren que DHA es un ácido graso esencial y a la vez más efectivo e importante que el EPA para larvas de peces marinos.

Martínez-Córdova *et al.* (2002), realizaron un experimento en donde enriquecieron dietas de larvas de camarón (*L. vannamei*) con un compuesto rico en ácidos grasos. Por un lado, se alimentaron las larvas desde el inicio del cultivo hasta la sexta semana. Posteriormente, enriquecieron las dietas desde el inicio hasta la novena semana. Se tuvo un estanque como control, con la dieta comercial utilizada en la granja. Se evaluó el efecto de los tratamientos en el crecimiento, sobrevivencia y composición proximal. Al final del experimento, no se presentaron diferencias significativas en cuanto al crecimiento. Sin embargo, la sobrevivencia mayor se presentó en aquellos estanques en donde la dieta fue enriquecida con una fuente de ácidos grasos poliinsaturados. Si se toma en cuenta que la dieta control contenía

un 40% de proteína, los resultados sugieren que es factible disminuir el nivel proteico de la dieta, sustituyéndolos por ácidos grasos, con lo cual no solamente se obtienen crecimientos similares y, además, mejores tasas de sobrevivencia.

Rivera y Botero (2009), mencionan que el ARA tiene un efecto en la sobrevivencia, siendo un importante promotor del crecimiento de larvas y post-larvas marinas, mejorando la resistencia al estrés. Sobre todo, cuando se aplica en las proporciones óptimas junto al EPA y DHA se logra una normal metamorfosis y pigmentación de la piel. En experimentos realizados con larvas de dorada (*Sparus aurata*) se observó una mayor sobrevivencia en larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con AA que con los rotíferos enriquecidos con DHA, lo que probablemente se deba a que el ARA está involucrado en la síntesis de eicosanoides con alta actividad biológica denominados serie-2 prostanoides y serie 4 leucotrienos y tromboxanos (Montero e Izquierdo, 2000). Estos metabolitos están involucrados en varios procesos de regulación celular incluyendo el control de fluidos y el flujo de electrolitos, procesos de coagulación, anti-inflamación, sistema cardiovascular, funciones reproductivas, en la modulación de la transmisión en el sistema neural, el funcionamiento del hipotálamo y regulación del flujo sanguíneo cerebral, así como la producción de hormonas involucradas en la metamorfosis y la pigmentación. Efectos adversos de los ácidos grasos altamente insaturados y sus proporciones en larvas de peces (Montero e Izquierdo, 2000).

Bell y Sargent (2003), en su estudio “Ácido araquidónico en alimentos de acuicultura: estado actual y futuras oportunidades”, experimentaron con juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) que fueron alimentados con dietas basadas en caseína semi purificadas que contenían 15% de lípidos, compuesta por una mezcla de aceite de coco hidrogenado y ácido oleico y 1% de pureza. Los resultados de estos ensayos mostraron que el rodaballo, que se alimentaba de ARA como el único HUFA (0,78 % de la dieta seca), presentó un mayor crecimiento y supervivencia en comparación con cualquiera de los tratamientos experimentales. Mientras que al adicionar únicamente DHA, se presentó un menor crecimiento y

supervivencia en comparación al resto de los tratamientos. Estos estudios proporcionaron la primera evidencia de que el ARA es un ácido graso esencial en el crecimiento y desarrollo normal en juveniles de peces marinos. Además, en este estudio también se mencionan varios experimentos sobre ARA en larvas de dorada que han confirmado que altos niveles de ARA puede mejorar el crecimiento, supervivencia y resistencia al manejo del estrés.

3.- OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Investigar los efectos de los diferentes niveles de inclusión de ARA en dietas libres de aceite de pescado sobre el crecimiento, supervivencia y perfil de ácidos grasos de hepatopáncreas y musculo de en juveniles del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*).

3.2. Objetivos particulares

- Evaluar dietas formuladas libres de aceite de pescado que cubran los requerimientos nutricionales para el camarón blanco del Pacífico mediante la incorporación de los ácidos grasos EPA (20:5n3), DHA (22:6n3) y ARA (20:4n6).
- Evaluar la sustitución el desempeño y sobrevivencia de juveniles de *L. vannamei* a partir de las diferentes dietas experimentales
- Establecer en nivel óptimo de inclusión de Ácido Araquidónico (ARA), a partir de los diferentes niveles de inclusión en la dieta.

5.- METODOLOGÍA

El experimento se realizó con juveniles de *L. vannamei* resistentes a la enfermedad de la mancha blanca, según los productores. Aproximadamente 3,000 organismos, con un promedio de $(0.80 \pm 0.10 \text{ g D.E.})$ fueron provenientes de un laboratorio comercial (Maricultura del Pacífico, Sinaloa, México) y se transportaron a las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California (IIO - UABC, México). En el laboratorio, los organismos se mantuvieron en un sistema cerrado de recirculación (RAS) compuesto por dos tanques circulares de 1,000 L, un sumidero, un biofiltro casero y un espumador de proteínas. En la fase de mantenimiento, los camarones fueron alimentados tres veces al día, con una ración equivalente al 10 % de la biomasa total con dietas de mantenimiento diseñadas para con un nivel de 41 % de proteína y 9 % lípidos.

Una vez que los juveniles alcanzaron la talla experimental $(1.10 \pm 0.22 \text{ g})$ se distribuyeron aleatoriamente en un sistema RAS de 12 tanques con capacidad de 300 L, equipado con un biofiltro (PolyGeysers®; PneumaticDrop Bead Filter model PG7 International Filter Solutions, TX, USA), calentador y espumador de proteínas, con una densidad final de 30 organismos por tanque. Los tratamientos se distribuyeron de manera aleatoria (por triplicado) y posteriormente los camarones se alimentaron tres veces al día (08:00, 12:00 and 17:00 h) durante seis semanas (8 % de la biomasa diaria).

La temperatura del agua $(27.9 \pm 0.94 \text{ }^\circ\text{C})$, salinidad $(35.8 \pm 0.85 \text{ ppt})$ y oxígeno disuelto $(5.60 \pm 0.65 \text{ mg L}^{-1})$ fueron monitoreados diariamente (YSI-55, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA) y el amonio total $(0.06 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1})$, nitritos $(0.20 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1})$ y alcalinidad $(104.7 \pm 4.22 \text{ mg L}^{-1})$ se midieron cada tercer día (API test kits, Mars Fishcare Inc., Chalfont, PA, USA) ().

4.1. Elaboración de las dietas

Los ingredientes, la composición proximal y el perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales se presentan en las Tablas 1 y 2. Se formularon cuatro dietas isoprotéicas e isolipídicas reducidas en grasa (harina de pescado y pollo desgrasada con 3: 1 de hexano: harina) para contener aproximadamente el 42 % de proteína cruda y el 8.5 % de lípido crudo. La base proteica de las dietas estaba compuesta por 290 g kg⁻¹ de harina de aves y 145 g kg⁻¹ de harina de pescado. El contenido de lípidos de la dieta de control estaba compuesto por una mezcla de aceite de pescado y aceite de soya (1: 1), las otras tres dietas estaban compuestas por una mezcla de aceites concentrados DHA y EPA (en la misma proporción), saturados (SFA) y Aceites ricos en FA monoinsaturados (MUFA) (aceites de coco y cacahuate, respectivamente) y diferentes niveles de ARA (0 %, 0.3 % y 0.6 %).

Las dietas experimentales se produjeron en las instalaciones del IIO - UABC, siguiendo los protocolos internos. Inicialmente, los macronutrientes se pulverizaron a 0,5 mm (Inmimex M-300, México), se tamizaron (Kemutek-Gardner K300, EE. UU.). Posteriormente se mezclaron utilizando un cortador-mezclador vertical (Robot Coupe R-60, EE. UU.) Hasta obtener una masa homogénea. Los micronutrientes se incorporaron a la comida a granel. Se agregó la fuente de aceite a lo largo de la mezcla y, finalmente, se agregó agua hasta que se logró la textura deseada, sin pasar del 60% de la mezcla total.

Las dietas fueron prensadas en frío utilizando un molinillo de alimentos de calidad comercial (Tor-Rey 5HP, México) y se secaron a 60 °C durante 12 horas. Todos los alimentos se mantuvieron refrigeradas a 4 °C durante todo el ensayo (Tabla 1).

Tabla 1 Formulación y composición proximal de las dietas experimentales (g / kg¹).

<i>Ingredientes</i>	<i>Niveles de DHA (g/kg¹)</i>			
	0%	0.0%	0.3%	0.6%
Harina de ave	290.4	290.4	290.4	290.4
Harina de pescado	145.4	145.4	145.4	145.4
Proteína de soya (42%)	150.0	150.0	150.0	150.0
Gelatina	80.0	80.0	80.0	80.0
Maizena	225.8	225.8	225.8	225.8
Rovimix	20.0	20.0	20.0	20.0
Lecitina de soya	10.0	10.0	10.0	10.0
Colesterol	5.0	5.0	5.0	5.0
Benzoato de sodio	2.3	2.3	2.3	2.3
StayC	0.3	0.3	0.3	0.3
Taurina	5.0	5.0	5.0	5.0
BHT	1.0	1.0	1.0	1.0
Aceite de pescado	32.5	-	-	-
Aceite de soya	32.5	-	-	-
Aceite de coco	-	29.0	27.0	26.0
Aceite de cacahuete	-	26.0	25.0	23.0
Aceite DHA	-	7.0	7.0	7.0
Aceite EPA	-	3.0	3.0	3.0
Aceite ARA	-	0.0	3.0	6.0
<i>Composición proximal (g/kg¹)</i>				
Lípidos Crudos	84.72	85.31	82.16	83.61
Proteína Cruda	442.02	447.80	456.90	448.60
Materia seca	9.82	12.61	12.19	11.17
Cenizas	69.11	68.35	68.90	68.29
NFE	394.33	385.93	379.85	388.33

NFE (g / kg¹) incluyendo fibra = 1000 - (proteína cruda + lípido en polvo + ceniza).

a Harina de pescado (desgrasada por extracción 3 x hexano) y aceite de pescado de origen sudamericano;

c Alimentación de calamar de origen sudamericano;

h Premezcla de vitaminas y minerales (UI kg - 1 o g / kg de premezcla): vitamina A. 2.5MIU; vitamina D3. 0,25 MIU; vitamina E. 16.7 g; vitamina K3. 1,7 g; vitamina B1. 2,5 g; vitamina B2. 4.2 g; vitamina B3. 25 g; vitamina B5. 8.3; vitamina B6. 2,0 g; vitamina B9. 0.8; vitamina B12. 0,005 g; biotina 0,17 g; vitamina C. 75 g; la colina 166.7 g; inositol. 58,3 g; etoxiquina. 20.8 g; cobre. 2,5 g; hierro ferroso. 10.0 g; magnesio. 16,6 g; manganeso. 15,0 g; zinc. 25.0 g;

a.b.c.d.e.f.g.h.i.j.l Nutricon Ltda-Me. Sao Paulo. Brasil;

m Copra Indústria Alimentícia Ltda .. Alagoras. Brasil;

n victor guedes. Ind. Com. S.A .. Abrantes. Portugal;

o EPA concentrado de aceite de pescado (> EPA 45%). Laboratorios Phosphotech. ZAC de la Lorie. Francia;

p Incromega™ DHA 500 TG (> 50% DHA). CRODA™. Snaith Yorkshire del este. Reino Unido

q Aceite concentrado de ARA (> 40% de ARA). Jangsu Tiankai Biotechnology Co .. Ltd. Nanjing.}

Tabla 2. Composición de ácidos grasos de las dietas experimentales

Acidos grasos	(% Total de ácidos grasos en las dietas)			
	Control	0%	0.3%	0.6%
12:0	n.d.	15.27	14.83	14.49
14:0	3.48	7.09	6.75	6.59
15:0	0.36	0.11	0.11	0.11
16:0	19.28	15.15	14.93	14.61
18:0	5.30	4.14	4.24	4.37
20:0	0.79	0.54	0.53	0.54
24:0	0.87	0.53	0.52	0.55
∑SFA	30.47	27.56	27.09	26.76
16:1	4.31	1.76	1.69	1.64
18:1n-9	19.75	26.78	26.23	25.49
18:1n-7	1.67	0.77	0.72	0.75
20:1n-9	0.93	1.00	0.98	0.95
∑MUFA	26.66	30.31	29.61	28.83
18:2n-6	26.67	15.73	16.08	16.09
20:4n-6	0.75	0.40	1.82	3.14
∑PUFA n-6	27.43	16.12	17.91	19.23
18:3n-3	3.91	0.91	0.95	0.92
20:5n-3	5.05	2.58	2.58	2.67
22:6n-3	4.86	4.47	4.34	4.26
∑PUFA n-3	13.82	7.96	7.87	7.85
∑PUFA	41.25	24.08	25.78	27.08
n-3/n-6	0.50	0.49	0.44	0.41
ARA/DHA	0.15	0.09	0.42	0.74
ARA/EPA	0.15	0.15	0.71	1.18
Otros	2.02	2.78	2.69	2.85

∑SFA, ∑MUFA, ∑PUFA, ∑n-3 PUFA, ∑n-6 PUFA son la suma de n3 saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, poliinsaturados n3 y poliinsaturados n6, respectivamente.

4.2. Desempeño y toma de muestras

Al final de la prueba de alimentación (seis semanas), los camarones fueron sacrificados mediante choque térmico (hipotermia), colocándolos en baldes con agua y bloques de hielo, posteriormente se evaluó el desempeño, utilizando las siguientes métricas:

Tasa de incremento promedio (SGR,%) = $100 \times [(\ln W_t - \ln W_o) / \text{días de alimentación}]$;

Tasa de supervivencia (SR,%) = $N_t \times 100 / N_o$;

Donde W_t y W_o fueron peso promedio final e inicial de los camarones; mientras que N_t y N_o fueron el número final e inicial de camarones, respectivamente.

Además, tres camarones completos fueron congelados mantenidos a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ para los análisis posteriores. Del mismo modo se muestrearon, 3 hepatopáncreas y 3 segmentos de músculo fueron conservados para su análisis posterior.

4.4. Ácidos grasos (AG).

Todas las dietas experimentales y los tejidos musculares del camarón se analizaron por triplicado según AOAC (2015). El peso seco y el contenido de cenizas de las dietas se determinaron secando las muestras molidas a $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h, seguido de la carbonización en un horno de mufla a $550\text{ }^\circ\text{C}$ durante seis h. La proteína cruda se analizó mediante el método de micro-Kjeldahl (UDK 129, Velp, Italia), y el contenido se calculó por conversión de nitrógeno ($\% \text{N} \times 6.25$). El análisis de lípidos se realizó mediante el método Soxhlet de acuerdo con la AOAC utilizando éter de petróleo como vehículo. El perfil de ácidos grasos se obtuvo de acuerdo con (Parrish *et al.*, 2015). Los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) se analizaron utilizando cromatografía de gases equipada con un detector de ionización de llama (Agilent GC 6880, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). Utilizando hidrógeno como gas portador. Las condiciones de la columna GC (60 m x 0.25 mm con 0.25 μm de espesor de película; Agilent 122-2362 dB-23).

4.5. Análisis estadístico

Los resultados de crecimiento (el peso promedio de los camarones al inicio y al final del experimento) el perfil de AG muscular entre los grupos experimentales se realizó mediante análisis de varianza de una vía (ANDEVA), en caso de diferencia significativa se utilizó HSD de Tukey utilizando el software SIGMASTAT

para Windows versión 3.5 (SigmaStat Software, CA, EE. UU.). La relación estadística de los niveles de suplementación de DHA con el peso final y el nivel de DHA muscular se evaluó mediante análisis de regresión lineal, mientras que el análisis de regresión de línea discontinua se realizó entre los niveles de suplementación de DHA y SGR. Los análisis de regresión se realizaron utilizando el software estadístico SPSS (V. 25 para Windows, SpSS Inc., IL, EE. UU.). Se utilizó un nivel de significancia de $P < 0,05$ para todas las pruebas estadísticas.

5.-RESULTADOS

Los resultados de rendimiento y supervivencia se presentan en la Tabla 3. Los animales alimentados con una dieta que contenía 0.3 % de ARA presentaron un peso final más bajo en comparación con el grupo control. No se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales para SGR y supervivencia.

Tabla 3. Efecto de diferentes niveles de ARA en el rendimiento del crecimiento y la supervivencia de *Litopenaeus vannamei* alimentados con dietas experimentales.

Índice	Tratamientos				P-valor
	Control	0%	0.3%	0.6%	
Peso inicial (g)	1.10±0.01	1.10±0.01	1.10±0.03	1.10±0.03	1.00
Peso final (g)	3.03±0.12	2.93±0.57	2.53±0.31	2.77±0.35	0.427
SGR ¹	4.64±0.51	4.31±1.27	3.42±0.76	3.93±0.79	0.414
Supervivencia (%) ²	91.11±3.85	90.00±5.77	96.67±5.77	88.89±5.09	0.330

¹ tasa de crecimiento específico (SGR, % d) = $(\ln W_t - \ln W_o) \times 100 / t$

² Tasa de supervivencia (SR, %) = $N_t \times 100 / N_o$

Donde W_t y W_o fueron el peso final e inicial de los organismos, respectivamente; N_t y N_o fueron el número final e inicial de camarones, respectivamente; t fue la duración del experimento en días.

La composición de ácidos grasos de hepatopáncreas y el músculo se presentan en las Tablas 4 y 5 respectivamente. Los diferentes niveles de inclusión de ARA en las dietas experimentales influyeron directamente en el perfil de ácidos grasos de los tejidos. Los animales alimentados con una dieta de 0.6 % presentaron un nivel de ARA significativamente más alto en hepatopáncreas que otros grupos experimentales ($p < 0.05$), mientras que en el músculo se observó un aumento gradual de ARA entre los grupos con niveles más bajos en Control y 0 % seguido

por 0.3 % y 0.6 %. También se observaron cambios significativos en los otros LC-PUFA (DHA y EPA) en hepatopáncreas ($p < 0.05$). El porcentaje de EPA fue mayor en Control que 0.3 % y 0.6 %, mientras que el porcentaje de DHA en 0.3 % fue menor en comparación con Control y 0 %, no se observaron diferencias entre 0.6 % y los otros grupos experimentales. Los niveles de DHA en el músculo fueron más altos en el Control en comparación solo con el grupo de 0.6 %, y no se observaron diferencias en la concentración de EPA en el tejido muscular entre los grupos. Las diferencias observadas en los niveles de, ARA, EPA y DHA en hepatopáncreas influyeron en los AGPI n6 (Ácidos Grasos Omega 6) y n3 (Ácidos Grasos Omega 3) totales, con un mayor porcentaje de n6 en el Control en comparación con los otros grupos (los AGPI totales siguieron exactamente el mismo perfil) y un mayor porcentaje de n3 en el control en comparación con 0.3 % y 0.6 % grupos. Sin embargo, no se observaron diferencias en los AGPI n3 y n6 totales en el músculo. Se observaron cambios significativos en la relación ARA / DHA y ARA / EPA en ambos tejidos. La relación ARA / DHA en hepatopáncreas aumentó gradualmente con un porcentaje más bajo en 0% seguido por Control, 0.3% y 0.6%. Casi el mismo perfil se observó en la relación ARA / EPA de hepatopáncreas y las relaciones ARA / DHA y ARA / EPA del músculo, sin embargo, los grupos de control y 0% no fueron diferentes entre ellos

No se observaron diferencias significativas puntuales en los otros niveles de AG, como una mayor acumulación 18:1n9 en control en comparación con los otros grupos en ambos tejidos, y esta variación influyó en un MUFA total más alto en el mismo grupo en comparación con los otros tratamientos. Del mismo modo, se observaron diferencias en 18:2n-6 que era más representativo en Control que otros grupos, mientras que en el músculo este ácido graso estaba menos presentes en animales de 0.3 % y 0.6 % que los tratamientos Control y 0%.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos de hepatopáncreas de camarones alimentados con dietas que contienen diferentes niveles de ARA.

Ácidos grasos	Tratamientos				P-valor
	Control	0%	0.3%	0.6%	
12:0	n.d.	3.40±1.00	4.90±0.87	3.93±0.59	0.164
14:0	1.38±0.13 ^a	2.55±0.81 ^{ab}	2.93±0.62 ^b	2.36±0.41 ^{ab}	0.017
16:0	19.27±1.11	17.72±0.53	18.20±0.59	17.15±2.32	0.327
18:0	7.21±0.22 ^a	5.64±0.57 ^b	5.51±0.26 ^b	5.81±0.39 ^b	0.002
ΣSFA	27.85±0.98	29.31±1.81	31.54±1.03	29.34±1.67	0.073
16:1	1.98±0.24	1.70±0.26	1.75±0.15	1.56±0.17	0.180
18:1n-9	20.07±1.56 ^a	27.23±0.55 ^b	28.92±0.59 ^b	28.95±3.38 ^b	0.001
18:1n-7	3.63±0.10 ^a	2.45±0.13 ^b	2.10±0.26 ^b	2.37±0.25 ^b	<0.001
20:1n-9	n.d.	0.62±0.04	0.61±0.06	0.61±0.17	0.993
ΣMUFA	25.68±1.67^a	32.00±0.57^b	33.38±0.74^b	33.49±3.14^b	0.002
18:2n-6	17.46±0.85 ^a	14.17±0.75 ^b	14.84±1.09 ^b	13.88±1.23 ^b	0.004
18:3n-6	1.81±0.08	1.80±0.07	1.75±0.22	1.82±0.25	0.648
20:2n-6	2.49±0.06 ^a	1.49±0.34 ^b	1.41±0.38 ^b	1.51±0.35 ^b	0.008
20:4n-6	2.67±0.36 ^a	2.09±0.48 ^a	2.83±0.38 ^a	4.87±1.18 ^b	0.004
ΣPUFA n-6	24.43±0.70^a	19.55±0.64^b	20.83±0.49^b	22.08±0.61^b	0.002
18:3n-3	1.51±0.17 ^a	0.70±0.07 ^b	0.70±0.03 ^b	0.56±0.04 ^b	<0.001
20:5n-3	7.01±0.81 ^a	5.44±0.33 ^{ab}	3.64±0.45 ^b	4.37±1.34 ^b	0.006
22:6n-3	8.41±1.21 ^a	8.11±1.02 ^a	6.04±0.41 ^b	6.35±1.19 ^{ab}	0.045
ΣPUFA n-3	16.94±2.07^a	15.16±1.02^{ab}	11.37±0.62^b	12.13±2.75^b	0.018
ΣPUFA n-3/n-6	41.37±1.99^a	34.71±1.37^b	32.20±0.58^b	34.21±3.34^b	0.030
ARA/DHA	0.69±0.09^{ab}	0.78±0.05^a	0.55±0.04^b	0.55±0.11^b	0.016
ARA/EPA	0.32±0.01^a	0.25±0.03^b	0.47±0.08^c	0.76±0.04^d	<0.001
ARA/EPA	0.38±0.01^a	0.38±0.09^a	0.78±0.01^b	1.13±0.07^c	<0.001
Otros	5.10±0.93 ^a	3.85±0.79 ^a	2.88±0.49 ^b	2.96±1.72 ^c	0.113

Los valores representan medias ± error estándar (n = 3 tanques por tratamiento). ΣSFA, ΣMUFA, ΣPUFA, Σn-3 PUFA, Σn-6 PUFA son la suma de n3 saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, poliinsaturados n3 y poliinsaturados n6 respectivamente. a, b Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre las dietas experimentales, según la prueba de Tukey (P <0.05).

Tabla 5. Composición de ácidos grasos del músculo de camarones alimentados con dietas adicionadas con diferentes niveles de ARA.

Ácidos grasos	Tratamientos				P-valor
	Control	0%	0.3%	0.6%	
12:0	n.d.	0.36±0.15 ^a	0.72±0.37 ^a	1.60±0.09 ^b	0.002
14:0	0.41±0.08	0.56±0.19	0.64±0.20	0.71±0.01	0.148
16:0	18.00±0.10	17.85±0.61	17.52±0.28	18.16±0.63	0.417
18:0	10.74±0.50	10.09±0.47	10.18±0.43	9.55±1.62	0.492
ΣSFA	29.15±0.48	28.85±0.09	29.05±0.85	30.01±1.05	0.280
16:1	0.97±0.05	0.94±0.07	0.79±0.10	0.68±0.24	0.088
18:1n-9	12.89±0.05 ^a	17.41±0.81 ^b	17.15±1.24 ^b	16.53±0.69 ^b	<0.001
18:1n-7	3.19±0.38 ^a	2.50±0.11 ^{ab}	2.20±0.06 ^b	2.83±0.40 ^{ab}	0.013
20:1n-9	1.44±0.26	1.70±0.18	1.09±0.16	1.46±0.31	0.073
ΣMUFA	18.49±0.65^a	22.55±1.13^b	21.23±1.50^b	21.50±0.65^{2b}	0.008
18:2n-6	12.62±0.53 ^a	12.05±0.36 ^a	10.95±0.73 ^b	9.53±0.66 ^b	<0.001
18:3n-6	1.55±0.35	1.93±0.31	1.54±0.21	2.64±0.89	0.097
20:2n-6	2.57±0.02 ^a	2.21±0.21 ^b	1.91±0.35 ^b	2.41±0.25 ^{ab}	0.049
20:4n-6	4.56±0.07 ^{ab}	4.17±0.18 ^a	6.32±0.06 ^b	8.28±1.43 ^c	<0.001
ΣPUFA n-6	21.30±0.65	20.36±0.45	20.72±0.25	22.85±1.89	0.073
18:3n-3	1.58±0.11 ^a	0.98±0.1 ^{ab}	1.36±0.90 ^{ab}	0.74±0.20 ^b	0.047
20:5n-3	12.38±0.51	11.47±0.65	11.54±1.61	10.41±0.21	0.148
22:6n-3	14.35±1.10	14.05±0.86	13.78±0.86	12.50±1.17	0.199
ΣPUFA n-3	28.31±1.50	26.56±1.05	26.68±3.32	23.65±1.53	0.117
ΣPUFA n-3/n-6	49.61±0.86	46.85±0.80	47.40±3.13	46.51±0.36	0.183
ARA/DHA	1.33±0.11	1.30±0.08	1.29±0.17	1.04±0.15	0.091
ARA/EPA	0.32±0.02^a	0.30±0.01^a	0.46±0.03^b	0.67±0.19^c	0.005
ARA/EPA	0.37±0.01^a	0.36±0.02^a	0.55±0.07^b	0.80±0.15^c	<0.001
Otros	2.75±0.52	1.75±0.42	2.32±0.78	1.98±0.30	0.626

Los valores representan medias ± error estándar (n = 3 tanques por tratamiento). ΣSFA, ΣMUFA, ΣPUFA, Σn-3 PUFA, Σn-6 PUFA son la suma de n3 saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, poliinsaturados n3 y poliinsaturados n6 respectivamente. a, b Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre las dietas experimentales, según la prueba de Tukey (P <0.05).

La tabla 6 nos muestra los proximales de los camarones enteros, donde solo hay diferencias significativas en el porcentaje de proteínas, siendo los organismos que se alimentaron con la dieta de 0.06% la que presenta el valor más bajo. En cuanto lípidos, cenizas y humedad no hay diferencias significativas.

Tabla 6. Composición proximal de los camarones completos alimentados con dietas que contienen distintos niveles de ARA.

	Tratamientos				P-valor
	Control	0%	0.3%	0.6%	
Proteína	73.57±0.52a	73.86±0.44 ^a	72.67±0.27 ^a	71.20±1.00b	0.001
Lípidos	10.70±4.58	10.37±355	11.08±5.36	14.77±5.88	0.682
Humedad	337.19±11.86	350.94±8.30	349.89±14.55	343.28±985	0.463
Cenizas	57.21±9.64	61.48±21.01	66.65±20.97	81.01±8.94	0.363

6.- DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación mostraron que las dietas con inclusión de ARA no mejoraron la supervivencia y crecimiento de los organismos, ya que en todos los casos el experimento control tuvo los mejores resultados lo que es contrario a lo que reportan autores que trabajaron con juveniles de especies de peces y camarones como *Psetta máxima* (Castell et al., 1994), *Paralichthys olivaceus* (Estévez et al., 1997), *Dicentrarchus labrax* (Atalah et al., 2011); *Siganus rivulatus* (Nayak et al., 2017), *Rachycentron canadum* (Trushenski et al., 2012; Araújo et al., 2019), *Penaeus chinensis* (Xu et al., 1994) y *Macrobrachiu nipponense* (Ding et al., 2018), presentaron un mejor rendimiento de crecimiento en animales alimentados con dietas ricas en ARA. Sin embargo, podemos resaltar, que el rendimiento de crecimiento de juveniles de *L. vannamei* (usando estos niveles de inclusión de ARA, rango de peso y condiciones), los resultados no fueron los esperados ya que los animales del grupo control (0.75 % de AG) tuvieron la ganancia de peso mayor que los otros grupos con inclusión de ARA (0.0 %, 0.03 %, 0.6 %) en sus dietas esto puede referir que otros LC-PUFA como EPA y DHA pueden influir más eficazmente en el crecimiento del camarón marino en comparación con el ARA. Por su parte Kanzawa (2000), menciona que el DHA es más eficiente en el crecimiento, sobrevivencia y vitalidad. En su estudio experimentó con dietas que contenían EPA o DHA a niveles de 0.5, 1.0, y 2.0 %, en donde los

tratamientos que se alimentaron con las dietas que contenían DHA crecieron más que las alimentadas con conteniendo EPA.

Además, se han reportado resultados similares en estudios realizados con juveniles de *Penaeus monodon* (Glencross y Smith, 2001), con menor crecimiento en animales alimentados con dietas ricas en ARA, y en juveniles de *L. vannamei* que no observaron diferencias en el rendimiento de crecimiento entre animales alimentados con niveles de ARA más bajos (0.8 % de los AG totales) y más altos (3.2 % de los AG totales) (Aguilar et al., 2012). Estos resultados sugieren que otros LC-PUFA como EPA y DHA pueden influir más eficazmente en el crecimiento del camarón marino en comparación con el ARA. Por ejemplo, según Kanazawa (1979), la clasificación nutricional de AGA para *Penaeus japonicus* es: EPA > DHA > 18: 3n-3 > 18: 2n-6 > 18: 1n-9, y ARA no se considera esencial para un desarrollo adecuado y crecimiento en esta especie.

A pesar de que algunos estudios señalan un bajo requerimiento de ARA en camarones marinos, Gonzáles-Félix et al. (2003) mostraron que los juveniles de *L. vannamei* alimentados con 0.5% de ARA tuvieron un mejor rendimiento de crecimiento que los animales alimentados con dietas que contienen el mismo nivel de inclusión de 18: 3n-3 y 18: 2n-6. Del mismo modo, Xu et al. (1993) observaron en juveniles de *P. chinensis* un aumento de peso del 120 % (después de 8 semanas) en animales alimentados con dietas que contenían 0.5% de ARA, y este resultado fue más detectable que los observados. en animales alimentados con 0.5% de 18: 2n-6 (aumento de peso del 81 %) y 18: 3n-3 (aumento de peso del 95 %), sin embargo, los animales alimentados con una dieta que contenía 0.5 % de DHA tuvieron un aumento de peso del 260 %.

Los resultados sugieren que DHA es un ácido graso esencial más efectivo e importante que el desarrollo de especies marinas. Además, este mismo autor menciona que la importancia metabólica de los ácidos grasos es DHA, EPA y por último ARA. Estos AG tienen una gran relevancia biológica para la mayoría de los

organismos, ya que compiten por la misma vía de síntesis de eicosanoides, especialmente las prostaglandinas, que son sustancias que modulan el sistema inmunitario y, en consecuencia, influyen en el rendimiento de la salud (Bell y Sargent., 2003; Glencross, 2009, Gonzáles-Félix et al., 2003).

Como se observó en estudios previos realizados con crustáceos marinos (González-Félix et al., 2003, 2010; Aguilar et al., 2012; Ding et al., 2018; Kumar et al., 2018; Araújo et al., 2019) y peces (Trushenski et al., 2012; Araújo et al., 2016, 2019a; Mata-Sotres et al., 2018), ARA, EPA y DHA se conservaron preferiblemente principalmente en el músculo en todos los grupos de experimentos, mientras que otros FA incorporaron en alta proporción en la dieta, como 12: 0, 16: 0 y 18: 2n-6, probablemente se metabolizaron para producir energía por oxidación β con un efecto conservador (Turchini et al., 2011). En el presente experimento si bien el grupo control no presentó ninguna diferencia significativa en relación al desempeño y sobrevivencia en comparación con los demás grupos experimentales con inclusión de ARA, se debe considerar que debe existir una relación proporcional entre DHA, EPA y ARA, para lograr un correcto desarrollo por parte de los organismos (Montero e Izquierdo, 2000, Mata-Sotres, 2018; Rombenso et al., 2016; Turchini et al., 2009, 2011; Trushenski et al., 2013).

Los AG en la dieta para el cultivo de especies marinas son esenciales en el metabolismo y crecimiento, puesto que la ingesta de estos determina sus niveles de AG n-3 y AG n-6. Además, existe una gran variación en la composición de ácidos grasos entre las diferentes especies y ésta depende de diversos factores bióticos y abióticos, como género, tamaño, estación, profundidad de las especies y madurez (Castro et al., 2013). Lo anterior se ve reflejado en los resultados de este experimento ya que los ácidos grasos, afectaron directamente el tejido por los diferentes niveles de inclusión de ARA (0.3 % y 0.6 %), presentado un nivel significativamente más alto en el hepatopáncreas, y un aumento gradual en el músculo. Sin embargo, los organismos alimentados con la dieta Control la cual contenía un nivel más alto de DHA y EPA, presentaron mayor cantidad de estos

mismos AG en su respectivo perfil. Además, Bell y Sargent (2003), argumentan que la composición de AG de los tejidos es determinada en parte por los niveles de AG disponibles en la dieta. Esto es particularmente el caso de los PUFA en donde un exceso en la dieta, puede conducir a una acumulación de ese PUFA en forma de fosfolípidos tisulares a expensas de otro PUFA presente en concentraciones mucho más bajas. Esto se debe a que las enzimas que esterifican ácidos grasos en fosfolípidos no tienen absoluta especificidad para ácidos grasos particulares (Bell y Sargent, 2003).

7.-CONCLUSIÓN

En conclusión, la inclusión de ARA en dietas libres de aceite de pescado para juveniles de *L. vannamei* tiene un impacto negativo en el rendimiento del crecimiento y una menor deposición de lípidos del hepatopáncreas. Con la tendencia a excluir aceite de pescado e incluir extractos de algas marinas en las dietas de acuicultura "modernas", la composición de AG siempre debe evaluarse rigurosamente ya que estos extractos no tienen niveles de ARA satisfactorios en su composición. Claramente, los resultados de este estudio, como algunos estudios previos, señalan el mayor requisito para otros LC-PUFA, especialmente EPA y DHA, ya que estos AG tienen una mayor influencia en el rendimiento de crecimiento en las especies de camarones marinos en comparación con ARA. Sin embargo, debido a la importancia fisiológica del ARA para la mayoría de los organismos, se recomienda realizar más investigaciones relacionadas principalmente con el efecto del ARA en *L. vannamei* mantener en condiciones que extiendan los rangos fisiológicos óptimos de salinidad, temperatura del agua, oxígeno y densidad. Los resultados presentados en este estudio pueden contribuir directamente a la fabricación de dietas específicas de bajo costo y más sostenibles para juveniles de *L. vannamei*.

8.-REFERENCIAS

- Aguilar, V., Racotta, I.S., Goytortúa, M., Wille, M., Sorgeloos, P., Civera, R., Palacios, E., 2012. The influence of dietary arachidonic acid on the immune response and performance of Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaus vannamei*, at high stocking density. *Aquac. Nutr.* 18, 258–271.
- AOAC, 2015. Official Methods of Analysis. Association of Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Araújo, B., Mata-Sotres, J.A., Viana, M.T., Tinajero, A., Braga, A., 2019. Fish oil-free diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: The effects of DHA-EPA supplementation on juvenile growth performance and muscle fatty acid profile. *Aquaculture* 511, doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734276.
- Araujo, P., Lucena, E., Yang, Y., Ceemala, B., Mengesha, Z., Holen, E., 2014. The impact of exogenous n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the induced production of pro- and anti-inflammatory prostaglandins and leukotrienes in Atlantic salmon head kidney cells using full factorial design and LC–MS/MS. *J. Chromatogr. B.* 964, 164–171.
- Araujo, P., Lucena, E., Yang, Y., Ceemala, B., Mengesha, Z., Holen, E., 2014. The impact of exogenous n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the induced production of pro- and anti-inflammatory prostaglandins and leukotrienes in Atlantic salmon head kidney cells using full factorial design and LC–MS/MS. *J. Chromatogr. B.* 964, 164–171.

- Atalah, E., Hernández-Cruz, C.M., Ganuza, E., Benítez-Santana, T., Ganga, R., Roo, J., Montero, D., Izquierdo, M., 2011a. Importance of dietary arachidonic acid for the growth, survival and stress resistance of larvae European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids. *Aquac. Res.* 42, 1261–1268.
- Ayisi, C.L., Hua, X., Apraku, A., Afriyie, G., Kyei, B.A. 2017. Recent studies toward the development of practical diets for shrimp and their nutritional requirements. *Hayati J Biosci.* 24, 109-117.
- Bell, J.G., Sargent, J.R., 2002. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture* 218, 491 – 499.
- Bell, J.G., Tocher, D.R., Henderson, R.J., Dick, J.R., Crampton, V.O., 2003. Altered fatty acid compositions in atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapessed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diets. *J. Nutr.* 133 (9), 2793 – 2801.
- Bou, M., Berge, G.M., Baeverfjord, G., Sigholt, T., Ostbye, T.K., Romarheim, O.H., Hatlen, B., Leeuwis, R., Venegas, C., Ruyter, B., 2017. Requirements of n-3 very long-chain PUFA in Atlantic salmon (*Salmo salar* L): effects of different dietary levels of EPA and DHA on fish performance and tissue composition and integrity. *Br. J. Nutr.* 117,
- Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H., Lee, J.D., 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 128, 315-333.

- Codabaccus, M.B., Ng, W.K., Nichols, P.D., Carter, C.G., 2013. Restoration of EPA and DHA in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using a finishing fish oil diet at two different water temperatures. *Food Chem.* 141, 236–244.
- Ding, Z, Zhou, J., Kong, Y., Zhang, I., Cao, F., Luo, N., Ye, J., 2018. Dietary arachidonic acid promotes growth, improves immunity, and regulates the expression of immune-related signaling molecules in *Macrobrachium nipponense* (De Haan). *Aquaculture* 484, 112 – 119.
- Estévez, A., Ishikawa, M., Kanazawa, A., 1997. Effects of arachidonic acid on pigmentation and fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel). *Aquac. Res.* 28, 279–289.
- Faillace, J. F., Vergara, R. y Suarez, A. (2016). Evaluación de una formula alimenticia para camarón de cultivo (*L. Vannamei*) con inclusión de proteína vegetal a base de harina de soya. *Revista AquaTIC*, (44). Recuperado de <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic>
- Fréon, P., Durand, H., Avadí, A., Huaranca, S., 2017. Life cycle assessment of three Peruvian fishmeal plants: toward a cleaner production. *J. Clean. Prod.* 145, 50–63.
- Gatlin III M. D. 2000. Nutrición de reproductores y juveniles de peces marinos. pp 73-82 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.

- Glencross, B., Rutherford, N., 2010. A determination of the quantitative requirements for docosahexaenoic acid for juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquacult. Nutr.* 17, 536 – 548.
- Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Rev. Aquac.* 1, 71 – 124.
- Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Rev. Aquac.* 1, 71 – 124.
- González-Félix, M., Gatlin, D.M.I.I.I., Lawrence, A.L., Perez-Velazquez, M., 2003. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition. *Aquac. Nutr.* 9, 115–122.
- González-Félix, M., Gatlin, D.M.I.I.I., Lawrence, A.L., Perez-Velazquez, M., 2003. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition. *Aquac. Nutr.* 9, 115–122.
- González-Félix, M.L., da Silva, F.S.D., Davis, D.A., Samocha, T.M., Morris, T.C., Wilkenfeld, J.S., Perez-Velazquez, M., 2010. Replacement of fish oil in plant based diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 309, 152 – 158.
- Hardy R.W. 2001. Nuevos descubrimientos en ingredientes de alimento para uso acuícola y el potencial de las enzimas suplementarias. *Revista Panorama Acuicola*. Vol 6. No. 2 (Enero/febrero 2001). P.p. 29-25.

Instituto Nacional de Pesca (2018). Diario oficial

Kanazawa, A., Teshima, S.-i, Endo, M., 1979. Requirements of prawn, *Penaeus Japonicus* for essential fatty acids. *Memoirs of the Faculty of Fisheries*, 28. Kagoshima University, pp. 27–33.

Kanzawa A. 2000. Nutrición de larvas de peces. pp 53-64 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.

Kumar, V., Habte-Tsion, H., Allen, K.M., Bowman, B.A., Thompson, K.R., El-Haraon, E., Filer, K., Tidwell, J.H., 2018. Replacement of fish oil with *Schizochytrium* meal and its impact on the growth and lipid metabolism of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquacult. Nutr.* 24, 1769 – 1781.

Martínez-Córdova, L. R., Ezquerro-Brauer, M., Bringas-Alvarado, L., Aguirre-Hinojosa, E., Garza-Aguirre, MdelC., 2002. Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el Noroeste de México. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D.,

Mata-Sotres, J.A., Tinajero-Chavez, A., Barreto-Curiel, F., Pares-Serra, G., Rio-Zaragoza, O.B.D., Viana, M.T., Rombenso, A.N., 2018. DHA (22:6n3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonald* fish oil-free diets containing poultry by-product meal and beef tallow. *Aquaculture* 497, 440–451.

Montero, D. y M. S. Izquierdo. 2000. Efecto de los lípidos dietéticos en la salud y resistencia al estrés en peces. Pp 282-297 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en*

- Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Murray R. K. Granner D. K., Mayes P. A. y Rodwell V. W. 2007. Bioquímica de Harper. 16a. ed. Manual Moderno. México. 1041 pp.
- National Research Council NRC., 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Editorial National Academics Press, Washington, D.C., USA. 392 p.
- Nayak, S., Koven, W., Meiri, I., Khozin-Goldberg, I., Isakov, N., Zibbeh, Mohammad, Z., Zilberg, D., 2017. Dietary arachidonic acid affects immune function and fatty acid composition in culture rabbitfish *Siganus rivulatus*. *Fish Shellfish Immun.* 68, 46–53.
- Olsen, R.L., Hasan, M.R., 2012. A limited supply of fishmeal: impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci. Technol.* 27, 120–128.
- Parrish C. Christopher., Nichols D. Peter., Pethybridge H., Young W.J. 2014. Direct determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top. Article in *Oecologia*. November 2014
- Rivera CM, Botero Z Mónica 2009. Alimento vivo enriquecido con ácidos grasos para el desarrollo larvario de peces. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2009; 22: 607-618.
- Rombenso, A.N., Trushenski, J.T., Schwarz, M.H., 2016b. Fish oil replacement in feeds for juvenile Florida pompano: composition of alternative lipid influences degree of tissue fatty acid profile distortion. *Aquaculture* 458, 177–186.

- Tacon, A.G.J., Metian, M., 2015. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 23 (1), 1–10.
- Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Trushenski, J., Schwarz, M., Bergman, A., Rombenso, A., Delbos, B., 2012. DHA is essential, EPA appears largely expendable, in meeting the n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid requirements of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 326-329, 81–89.
- Turchini, G.M., Ng, W.-K., Tocher, D.R., 2011. *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. Taylor and Francis, CRC Press, Boca Raton, FL USA.
- Xu, X., Ji, W., Castell, J.D., O'Dor, R., 1993. The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acids for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*). *Aquaculture* 118, 277 – 285.
- Xu, X.L., Ji, W.J., Castell, J.D., O'Dor, R.K., 1994. Essential fatty acid requirements of the Chinese prawn, *Penaeus chinensis*. *Aquaculture* 127, 29–40.

9.-ANEXOS



Imagen 1. Mantenimiento (limpieza, medición de parámetros, monitoreo de los organismos), de los diseños experimentales.



Imagen 2. Uso de UDK 129, Velp, Italia para el análisis de proteína cruda, mediante el método de micro-Kjeldahl.



Imagen 3. Inyección de Ácidos Grasos en cromatógrafo.



Imagen 4. Valoración de reactivos para análisis proximales.

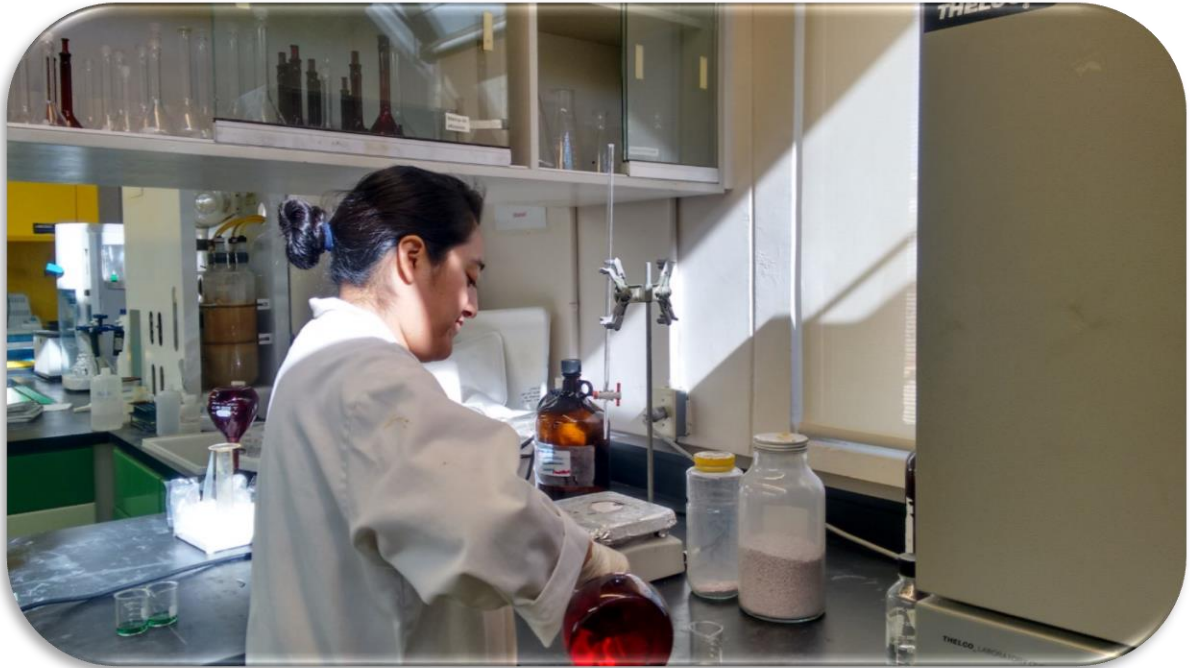


Imagen 5. Preparación de reactivos para análisis bromatológicos (proteína cruda).

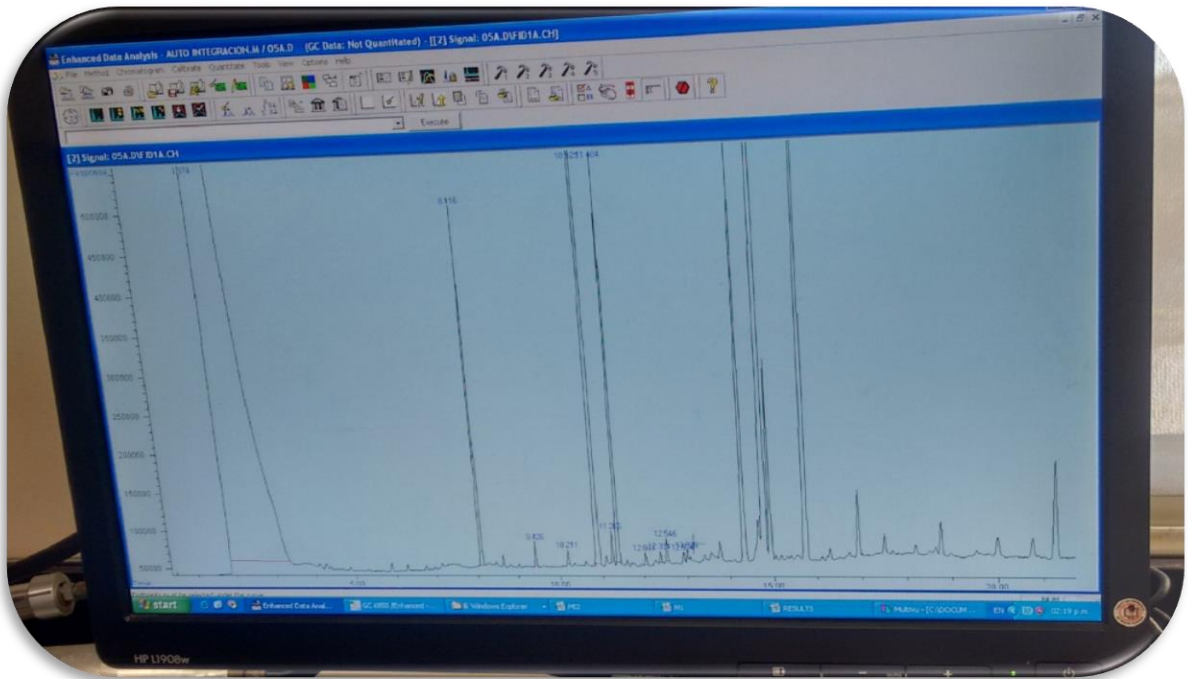


Imagen 6. Picos de los resultados de Ácidos grasos.