

MÁSTER INTERUNIVERSITARIO EN ACUICULTURA



Alimentación De La Lubina (*Dicentrarchus labrax*) con Piensos con Altos Niveles de Proteína Vegetal: Efectos de crecimiento, Parámetros Biométricos y Composición Corporal

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

Alumno:

Edilson Ronny Cusiyunca Phoco

Directoras Académicas:

Dra. Ana Tomás Vidal.

Dra. Silvia Martínez Llorens.

**INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA ANIMAL**

VALENCIA, Abril 2019

AGRADECIMIENTO

Dejo en constancia de mi sincero agradecimiento a mis profesores de la Universitat Politècnica de València y Universitat de València, quienes con su sabia enseñanza, consejos han permitido que logre un escalón más en el mundo académico y científico de la Acuicultura.

A mis tutoras, Dra. Ana Tomás y Dra. Silvia Martínez por su apoyo y por tener la paciencia mucho conmigo de haberme asesorado en la redacción de la presente tesis de máster.

Al Dr. Miguel Jover por brindarme una oportunidad de seguir cumpliendo una de mis metas, por su confianza depositado en mí.

Al Técnico de laboratorio Javier y Luis quienes me enseñaron a ser muy precavido y ser cauteloso con los reactivos y ordenado

A mis Padres Leocadio y Felicitas que desde muy lejos me brindan su apoyo moral e incondicional, a mis hermanos Alex, Darío, David, Milagros y Enrique que siempre están ahí conmigo

A todos mis compañeros del departamento de Ciencia Animal con quienes he compartido todo este tiempo, especialmente al grupo de Acuicultura.

TITULO: Alimentación de la lubina (*Dicentrarchus labrax*) con piensos con altos niveles de proteína vegetal: Efecto en el crecimiento, parámetros biométricos y composición corporal

RESUMEN:

El objetivo de este proyecto fue estudiar el efecto de la sustitución de harina de pescado por fuentes vegetales en los piensos para Lubina (*Dicentrarchus labrax*) sobre el crecimiento, composición corporal y sus parámetros biométricos. Para ello se empezó esta investigación con alevines de lubina con peso inicial de 30 g, que fueron alimentados con piensos con distintos niveles de sustitución de harina de pescado por fuentes proteicas vegetales: FM 30, FM 15 y FM 0, con un 30, 15 y 0 % de inclusión de harina de pescado

Al final del experimento que tuvo una duración de 196 días, no hubo diferencias en la supervivencia. Respecto al crecimiento los peces alimentados con el pienso FM 0, crecieron significativamente menos que el resto, no estando ello relacionado con una menor ingesta, puesto que la tasa de alimentación diaria fue similar con todos los tratamiento.

El factor de condición fue menor en las lubinas alimentadas con el pienso control, FM 30 que en las alimentadas con los otros dos piensos. De igual forma sucedió con el índice viscerosomático, mientras que con el resto de los parámetros biométricos no se encontraron diferencias significativas. La composición corporal y las eficiencias de retención no se vieron afectadas por el nivel de sustitución, únicamente las lubinas alimentadas con el pienso sin harina de pescado tuvieron una menor eficiencia de retención lipídica.

Palabras clave: Lubina, Harina de pescado, fuentes vegetales.

TITLE: Sea bass feeding (*Dicentrarchus labrax*) with feed with high levels of vegetable protein: effect on growth, Biometric Parameters and Body Composition

ABSTRACT

The objective of this project was to study the effect of fishmeal replacement by plant sources in diets for seabass (*Dicentrarchus labrax*) on growth, body composition and biometric parameters. , Sea bass with an initial weight of 40 g, were fed diets with different levels of fish meal replacement by vegetable protein: FM 30, FM 15 and FM 0, with a 30, 15 and 0 % of inclusion of fishmeal, respectively.

At the end of the experiment, which lasted 196 days, there were no differences in survival. Respect to the growth, fish fed diet FM 0 grew significantly less than the rest, not being related to a lower feed intake, because the daily feeding rate was similar in all dietary treatments.

The condition factor was lower in the sea bass fed the control diet, FM 30. Likewise, this fact was observed in the viscerosomatic index, while with the rest of the biometric parameters no significant differences were found. The body composition and retention efficiencies were not affected by the level of substitution, only seabass fed the diet without fishmeal had a lower efficiency of lipid retention.

Key words: Sea bass, Fish meal, vegetable sources.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABLAS	IV
ABREVIATURAS	V
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 La lubina Europea	2
1.2 Sustitución de la harina de pescado	3
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	6
III. MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1 Condiciones experimentales y ensayo de crecimiento	7
3.2 Condiciones experimentales de los peces	8
3.3 Piensos experimentales	11
3.4 Control de Crecimiento	14
3.5 Biometría	16
3.6 Análisis químico	18
3.7 Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS.	21
4.1 Crecimiento y parámetros nutritivos	21
4.2 Parámetros biométricos, composición corporal y eficiencia de retención	22

V.	DISCUSIÓN	25
VI.	CONCLUSIONES	28
VII.	BIBLIOGRAFÍA	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1.	Exportaciones de dorada, lubina de Turquía y Grecia en los principales mercados de la UE.	2
Figura 2:	Distribución de los tanques de la línea 2 en el LAC.	8
Figura 3.	Oxímetro portátil o sonda (OxyGuard Handy Polaris).	10
Figura 4	Test colorímetro para concentración de amonio, nitratos y nitritos (MERCK) (izda) Refractómetro (HannaInstruments)(dcha)	10
Figura 5:	Extruder semi-industrial, modelo BC45 del Departamento de Ciencia Animal de la UPV	11
Figura 6:	Detalle de la boquilla del Extruder y pienso producido.	14
Figura 7	Lubinas extraídas para pesaje, anestesiadas con esencia de clavo.	15
Figura 8:	Banco de trabajo para la realización de las biometrías.	17
Figura 9	Extractor de grasa ANKOM XT10	19
Figura 10	Evolución del crecimiento de pesos según el pienso experimental consumido	21

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.-	Evolución de la producción de Lubina en España (toneladas).	2
Tabla 2.-	Estudios sobre sustitución de la harina de pescado (HP) por mezclas vegetales en lubina europea.	4
Tabla 3:	Valores medios de los parámetros físico-químicos medidos durante la fase de experimentación	10
Tabla 4:	.Ingredientes y composición (g kg^{-1}) aproximada de las dietas experimentales.	12
Tabla 5:	Composición en aminoácidos de las dietas experimentales ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de materia seca)	13
Tabla 6	Crecimiento, parámetro nutritivos y supervivencia de lubinas alimentadas con los diferentes piensos experimentales	22
Tabla 7	Índices Biométricos de <i>D.labrax</i> , composición proximal, eficiencia de retención (datos expresados en % de materia seca al final del experimento.	23
Tabla 8	Composición proximal inicial y final (% en peso húmedo), contenido de energía bruta (KJg^{-1}) y valores productivos en la Lubina alimentadas con las diferentes piensos experimentales.	24

ABREVIATURAS

FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).
FM	Fish meal (Harina de pescado)
GB	Grasa bruta
PB	Proteína bruta
EUMOFA	El Observatorio Europeo del Mercado de los Productos de la Pesca y de la Acuicultura
EE	Extracto de Etéreo
w3	Omega 3
AA	Aminoácidos
AAE	Aminoácidos esenciales
AP	Aceite de pescado
APROMAR	Asociación Empresarial de Acuicultura de España
GM	Gluten de maíz
GT	Gluten de trigo
HG	Harina de guisante
HP	Harina de pescado
PI	Peso inicial
PF	Peso final
TCI	Tasa de crecimiento instantáneo
TAD	Tasa de alimentación diaria
ICA	Índice de conversión del alimento
CEC	Coefficiente de eficacia de crecimiento
VPP	Valor productivo de proteína
VPG	Valor productivo de grasa
FC	Factor de condición
IVS	Índice viscerosomático
IGV	Índice de grasa visceral
IHS	Índice hepatosomático
LAC	Laboratorio de acuicultura
UE	Unión Europea
UI	Unidades Internacionales
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ESM	Error Estándar de la media
UPV	Universitat Politècnica de València

I. INTRODUCCION:

El principal problema encontrado los últimos años es que los recursos son limitados, el aumento de la demanda y del precio de harina y aceite de pescado, tradicionalmente utilizados como ingredientes principales en la fabricación de piensos, ha llevado al sector de la acuicultura a buscar fuentes alternativas de proteínas y lípidos para apoyar su sostenibilidad. Entre las diferentes fuentes consideradas, las harinas y aceites vegetales parecen ser buenos sustitutos, pero su inclusión en el alimento para peces puede tener efectos adversos en la calidad y en el valor nutricional del pescado para consumo humano,

El sector sigue un incremento entre 6y 8 % anual, aun cuando en 2016 solo creció el 4,5 %. Se tiene marcado que desde 1951 con una producción de 0.8 millones de toneladas y en el año 2016 alcanzó una producción de 110,2 millones de toneladas teniendo un valor de venta más de 194,8 millones de euros. Los países de mayor producción de acuicultura comprenden 10 de las cuales quien lidera es China con una producción 63 721, 768 tm, seguido de indonesia con 16 616, 002 tm, cuyas toneladas de producción son de mayor volumen y lideran dentro del grupo, a diferencia de España que presenta 283.831 tm , que se ocupa la posición 21 (APROMAR,,2018)

Según datos de la FAO (2008) se calcula que la contribución de las proteínas de pescado al suministro mundial de proteínas animales en la dieta humana incrementó desde el 13,7% en 1961 hasta un máximo del 16% en 1996, y en la actualidad se ha estabilizado en un 15%. Este incremento del consumo de pescado ha coincidido con el importante desarrollo de la acuicultura durante las últimas dos décadas

Considerando solo la Unión Europea en el año 2016 se produjeron 185.400 toneladas, un 5,5 % más que el año anterior. La segunda especie fue el salmón atlántico, con 181.030 toneladas, un 2,7 % menos que en 2015. , la tercera fue la dorada con 83.186 toneladas, que se ha mantenido estable (+ 0,1 %) y la cuarta fue la lubina con una producción de 81,852 tm , un 17.3 % más que el 2015.

Para el 2017 las cifras de producción de acuicultura en España fueron de un total de 345,635 tm, comprendidas entre mejillón (273,517 tm), lubina (21,269 tm), trucha arco iris (17,948 tm) y dorada (13,643 tm). (APROMAR 2018).

1.1. La Lubina Europea.

El consumo de lubina y dorada está en alza con una tasa media de un 6 % en los últimos años. Grecia incrementó en 2017 sus exportaciones de lubinas y dorada frescas enteras en un 12 % y un 25% con respecto al año anterior. Y las exportaciones Turcas a la UE en un 20 % para la lubina fresca entera y en un 4 % para la dorada. (Figura 1) (EUMOFA 2018).

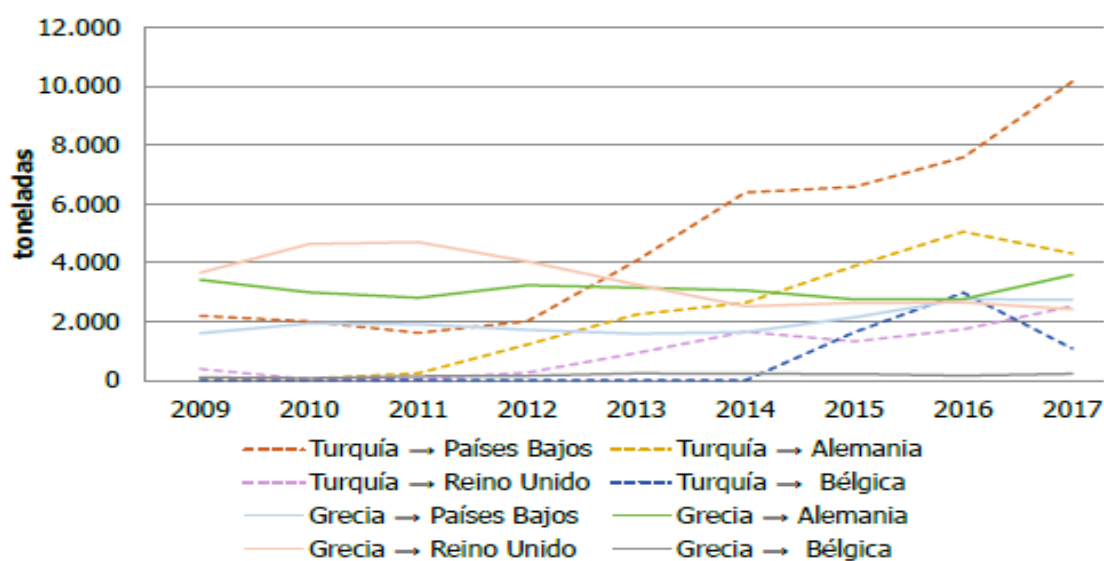


Figura 1. Exportaciones de dorada, lubina de Turquía y Grecia en los principales mercados de la UE.

Fuente: EUMOFA, Datos EUROSTAT 2018.

La producción de acuicultura en España de lubina ha experimentado un ascenso constante hasta el año 2011 (17.367 tm). En los años 2012 y 2017 sufrió un descenso de, pero la tendencia general de los últimos años ha sido siempre positiva (Tabla 1).

Tabla 1.- Evolución de la producción de Lubina en España (toneladas).

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Andalucía	3 050	3 660	3 895	4 000	3 777	2 815	5 356	6 081	3 261	3 450
Canarias	4 450	3 800	3 478	3 500	4 286	5 097	5 767	5 507	5 900	6 280
Cataluña	540	250	250	390	66	0	318	236	146	107
Murcia	4 100	2 395	3 956	3 880	4 987	5 519	6 009	8 164	6 990	8 445
Valenciana	1 700	2 390	2 788	2 500	1 591	3 945	3 874	3 457	4 972	4 825
Total	13 840	12 495	14 367	14 270	14 707	17 376	21 324	23 445	21 269	23 107

Fuente: APROMAR., (2018)

1.2. Sustitución de la harina de pescado

Debido a su metabolismo (adaptado evolutivamente a digerir proteínas), los peces carnívoros tienen necesidades proteicas muy elevadas respecto a otros animales.

Las proteínas suponen entre un 45 y 55% de la dieta en estas especies, como es el caso de la lubina.

Tradicionalmente, la principal fuente proteica utilizada en la elaboración de los piensos para peces ha sido la harina de pescado, s por su alto contenido en proteínas (más de un 60 % PB), por su alta digestibilidad proteica, su buen equilibrio en aminoácidos y por su contenido en ácidos grasos esenciales. Además, tiene un alto contenido en vitaminas y minerales, así como una gran palatabilidad para los peces.

La necesidad principal para la búsqueda de fuentes proteicas alternativas a la harina de pescado es debido al aumento de la producción acuícola, lo que nos lleva a una menor disponibilidad del producto y por lo tanto al aumento en su demanda y los precios de ésta. Como consecuencia de esta evolución, han aumentado los estudios sobre la viabilidad de nuevas fuentes de proteína ya que la industria de la acuicultura está tratando de ser más económica y sostenible.

Optar por proteicas vegetales como alternativa a la harina de pescado, es básicamente porque hay mayor disponibilidad, lo que hace que su precio en el mercado sea menor. Pero existen inconvenientes al usar este tipo de fuentes alternativas como son la presencia de factores antinutricionales que podrían dañar el tracto gastrointestinal y reducir la digestibilidad de los nutrientes y por tanto el crecimiento de los peces. Y también están relacionados con una baja palatabilidad, este último inconveniente puede ser solventado mediante la aplicación de tratamientos adecuados, como por ejemplo el uso de atractantes que haga más apetecible el alimento, propiciando con esto una mayor ingesta.

En la lubina se han estudiado diferentes materias primas vegetales como sustitutas a la harina de pescado de forma individual, como harina de guisante (Gouveis y Davies, 1998, 2000), levadura de cerveza (Oliva-Teles y Goç Alves, 2001), harina de soja (Días et al., 1997; Tibaldi y Bonaldo, 2006), gluten de maíz (Días et al., 1997, 2005) y

algunos trabajos utilizando mezclas de ingredientes como sustitutos a la harina de pescado (Kaushik et al., 2004; Adamidou et al., 2009).

Tabla 2: Estudios sobre sustitución de la harina de pescado (HP) por mezclas vegetales en lubina europea.

	PB/EE (%) T ^a °C/ Día	Fuente	Nivel HP/Nivel resto	PI g	PF g	TCI (% d ⁻¹)	ICA
Kaushik et al. (2004)	45/22	HP /gluten	52/0/0/9/0		331	0,66 ab	1,47
	22°C	maíz/gluten trigo/ soja/colza (+Lis)	40/8/0/15/10		333	0,67 a	1,47
	84 d		25/20/5/15/10	190	317	0,61 ab	1,44
			12/21/17/14/10		327	0,65 ab	1,47
			5/20/24/13/10		314	0,6 b	1,54
Adamidou et al. (2009)	40/20	HPI/soja/ girasol/ gluten maíz/ habas/	27/16/16/10/0/0/0		250	0,86 a	1,34
	25 °C	garbanzo/guisante	26/16/16/7/16/0/0		265	0,93 ab	1,31
	98 d		25/16/16/8/0/16/0		268	1,00 b	1,24
			26/16/16/7/0/0/16	100	264	0,95 ab	1,27
			26/8/8/10/34/0/0		242	0,89 a	1,32
			27/8/8/10/0/35/0		238	0,87 a	1,36
		28/8/8/10/0/0/33		256	0,94 ab	1,35	

Kaushik et al. (2004) llevaron a cabo una prueba con lubinas de 190 g de peso medio inicial (Tabla 2) en la que el contenido de harina de pescado se redujo gradualmente, siendo sustituida por una mezcla vegetal a base de gluten de maíz, gluten de trigo, soja y colza. No encontraron diferencias en la digestibilidad aparente la materia seca (80-82%), proteína (94-96%), energía (88-92%) o fósforo (49-58%). Todos los grupos tuvieron muy buen crecimiento, aunque ligeramente inferior en el grupo que fue alimentado con el pienso con sólo un 5% de HP, sin diferencias significativas entre tratamientos respecto a los parámetros nutritivos. Sin embargo, si se observó un ligero aumento en el contenido lipídico en las lubinas a Adamidou et al. (2009) estudiaron siete dietas isoproteicas (44% de proteína bruta) e isoenergéticas (20 kJ/g) que contenían

diferentes leguminosas en un 15 y 30%: habas, garbanzo, y guisante, junto con un pienso control. Pudieron comprobar que el mayor crecimiento se daba en las lubinas alimentadas con los piensos que contenían un 15% de los tres ingredientes y un 30% de guisante, mientras que en el caso del índice de conversión no se vio afectado por la inclusión de las tres leguminosas a los dos niveles estudiados

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La continua expansión de la acuicultura y la decreciente disponibilidad mundial de harina de pescado, están obligando a la industria a explorar materias primas alternativas para la alimentación de los peces. Actualmente las fuentes vegetales de proteína y lípidos se consideran ingredientes válidos, pero su inclusión en la dieta de los peces puede tener efectos adversos sobre el valor nutritivo del pescado para consumo humano, así como sobre el crecimiento y la salud de los peces, afectando la eficiencia de la producción. Debido a ello, continua la búsqueda de fuentes alternativas cuya combinación logre sustituir con éxito el mayor porcentaje de la harina de pescado en distintas especies y disminuir así la dependencia de la acuicultura.

Numerosos estudios se han realizado en especies marinas sobre el efecto dicha sustitución en el crecimiento, alimentación y composición nutricional de especies carnívoras, sin embargo, las investigaciones en lubina, *Dicentrarchus labrax*, especie marina de mayor producción en el Mediterráneo, son escasas

Es por ello, que el objetivo de este estudio fue:

- Evaluar la posibilidad de sustituir la harina de pescado en la dieta de la lubina europea utilizando ingredientes fácilmente disponibles para la industria de alimentos acuícolas, estudiando el efecto sobre el crecimiento, parámetros nutritivos, biométricos y composición corporal.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Condiciones experimentales y ensayo de crecimiento

El trabajo se realizó en el laboratorio de acuicultura (LAC) del Departamento de Ciencia Animal de la *Universitat Politècnica de València*.

El laboratorio dispone de varias líneas de experimentación, integradas en un circuito cerrado de recirculación de agua que permite realizar diversos experimentos con especies tanto de agua dulce como de agua salada a distintas temperaturas.

Este trabajo se realizó en la línea 2 del LAC, perteneciente al circuito cerrado de agua marina que, tras una correcta depuración de la misma, permite su reutilización evitando un gasto excesivo de agua.

Esta línea consta de una red de canaletas que recogen el agua de los tanques y la llevan a un filtro rotatorio, donde se eliminan los sólidos. Después, el agua pasa a un aljibe general y, a continuación, a un biofiltro que elimina el exceso de amonio. De este biofiltro, el agua pasa a otro aljibe desde el cual es enviada a los tanques por medio de bombas de impulsión.

La instalación también cuenta con una bomba de calor/frío para mantener la temperatura del agua constante durante todo el año. El aporte de oxígeno se realiza mediante un sistema de aireación con bombas electrosoplantes, que toman el aire del exterior, lo filtran y lo introducen en los tanques mediante difusores de material poroso asegurando una distribución uniforme del aire en pequeñas burbujas.

En caso de un fallo del sistema de aireación, existe un sistema de emergencia con el que se inyecta oxígeno al agua.

La línea 2 del laboratorio está formada por 18 tanques de fibra de vidrio, de forma cilíndrica, con una capacidad de 1750 litros cada uno, de los cuales sólo se usaron 9 para la realización de este estudio. Los tanques se distribuyen en una fila doble, con soportes para la red de agua, desagüe, aireación y oxigenación.



Figura 2: Distribución de los tanques de la línea 2 en el LAC.

Fuente: Imagen propia.

Durante el experimento, la temperatura era de $21,53 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, el oxígeno disuelto era de $7,62 \pm 0,41$ mg/L, la salinidad era de $16,15 \pm 2,20$ g/L (0/00), pH era $7,02 \pm 0,32$ y el valor de amonio fue $0,18 \pm 0,24$ mg/L. El fotoperiodo fue natural durante todo el período experimental y todos los tanques tenían condiciones de iluminación similares. Cada tratamiento de dieta de sustitución de dicho experimento se estudió por triplicado, por lo que había 3 tanques por cada tratamiento.

Los tanques estaban numerados con dos números, el anterior al guion corresponde a que son tanques que pertenecen a la línea 2, y el siguiente número es el número de cada tanque. De todos ellos, los usados en este estudio fueron el 2-1, 2-2, , 2-7, 2-9, 2-8, 2-13, 2-14, 2-16, 2-17.

3.2. Condiciones experimentales de los peces

Las lubinas fueron traídas de la piscifactoría Sonrionansa de la comunidad Autónoma: Cantabria, con un peso medio de 40 g y se transportaron vivas al Laboratorio de acuicultura de la Universitat Politècnica de València. Estas fueron pesadas y distribuidas en los tanques con un número de 50 por tanque. Las lubinas fueron aclimatadas y alimentadas con una dieta comercial durante dos semanas.

La alimentación se realizó a saciedad aparente de manera manual, dos veces al día (una por la mañana a las 9 horas y otra por la tarde a las 16 horas), seis días a la semana, aunque los sábados se alimentó mediante una única toma matinal. El domingo no se les alimentaba. Las dietas se ensayaron por triplicado.

Los botes de pienso se pesaban al final de cada toma para conocer la ingesta de cada tanque, y anotado el peso de cada uno en un estadillo para llevar el control de las ingestas. Cuando era necesario, se rellenaba el bote de cada uno de los piensos del estudio, pesando antes de ello el bote y, después del relleno, vuelto a pesar y anotado.

La alimentación se realizaba de una forma lenta y dosificada para que la totalidad del pienso fuese ingerido por los peces, evitando la deposición del pienso en el fondo del tanque y que la ingesta fuese la apropiada.

Diariamente, se comprobaba la concentración de oxígeno y temperatura del agua, y anotado todo ello en un estadillo para su control. Estos dos parámetros se midieron con un oxímetro portátil o sonda (OxyGuard Handy Polaris). Se introducía la sonda en el agua del tanque y el aparato procedía a realizar la medición.

Cada dos o tres días, se procedía a medir la salinidad, mediante un refractómetro (Hanna Instruments). El pH se media con tiras de papel tornasol comprobando en la escala de colores y las concentraciones de amonio, nitritos y nitratos, mediante test colorímetro (MERCK), a través de la comparación visual, para realizar análisis rápidos y semicuantitativos in situ. La media de los parámetros obtenidos a lo largo de la prueba podemos verla en la Tabla 3



Figura 3. Oxímetro portátil o sonda (OxyGuard Handy Polaris).
Fuente Imagen propia



Figura 4 Test colorímetro para concentración de amonio, nitratos y nitritos (MERCK)
(izda) Refractómetro (HannaInstruments)(dcha) Fuente: Imagen propia

Tabla 3 : Valores medios de los parámetros físico-químicos medidos durante la fase de experimentación

Parámetros Físico-Químicos	
Temperatura (°C)	21,53
Oxígeno (mg/l)	7,62
pH	7,02
Salinidad (‰)	16,15
Amonio (mg/l)	0,18
Nitritos (mg/l)	0,25
Nitratos (mg/l)	92,32

El crecimiento se controló mediante muestreos mensuales, que solían hacerse el día después del ayuno (domingo), ya que para realizarlos, los peces tenían que estar sin ingerir alimento un día entero. En cada muestreo se pesaban todos los ejemplares, empleando esencia de clavo como anestésico, facilitando así el manejo de los animales.

El estudio duró 196 días (mayo del 2018- diciembre 2018). El experimento terminó cuando los peces alcanzaron el peso comercial.

3.3. Piensos Experimentales

Todos los piensos experimentales utilizados en este trabajo fueron elaborados mediante un proceso de cocción - extrusión en la fábrica de piensos del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València. Para ello se empleó un extruder semi-industrial de la casa Clextral modelo BC45 (Figura 5).



Figura 5 : Extruder semi-industrial, modelo BC45 del Departamento de Ciencia Animal de la UPV. Fuente: Imagen propia.

Se fabricaron tres piensos (Tabla 4) con distintos niveles de inclusión de harina de pescado. Dichos piensos fueron isoproteicos (45% PB) e isolipídicos (18% EE), uno de ellos se consideró pienso control (el que contenía un 30% de harina de pescado, ya que es un nivel similar al que contienen actualmente los piensos comerciales de lubina) con un 30% de harina de pescado (pienso FM 30), otro con un 15% de esta materia prima (FM 15) y un pienso que no contenía harina de pescado en su

composición (FM 0). La proteína de la harina de pescado eliminada se sustituyó por proteína de gluten de trigo y turtó de soja y los aminoácidos esenciales necesarios para cubrir las necesidades de esta especie (Tibaldi y Kaushik, 2005), aumentando el nivel del aceite de pescado a medida que se reducía la harina de pescado.

Tabla 4: Ingredientes y composición (g kg⁻¹) aproximada de las dietas experimentales.

Materias primas	FM 30	FM 15	FO 0
Harina de pescado	332.2	166.1	0
Harina de trigo	203.9	175.4	144.7
Gluten de trigo	130.8	228.3	324.8
H. soja desengrasada	247.4	281.4	314.4
Aceite de soja	72	72	72
Aceite de pescado	71	84	97
Fosfato de Calcio	20	41	62
Taurina	5	10	20
Metionina	3	6	8
Lisina	0	7	14
Arginina	0	5	10
^v Mix de multivitaminas y minerales	10	10	10
Composición proximal (% en peso húmedo)			
Materia seca	91.83	92.26	92.98
Proteína bruta	47,24	48,17	46.77
Grasa bruta	17.45	17.17	17.67
Cenizas	9,09	8,36	7,87
Humedad	8,17	7,74	7,02

^vLas vitaminas y la mezcla mineral (los valores se expresan en g/kg, excepto aquellos en paréntesis): Pre mezcla: 25; Colina, 10; DL-a-tocoferol, 5; ácido ascórbico, 5; (PO₄)₂Ca₃, 5. Composición Pre mezcla: acetato de retinol, 1000000 IU kg⁻¹; calcipherol, 500 UI kg⁻¹; DL-a-tocoferol, 10; menadiona sodio bisulfito, 0,8; hidroclorehidrato de tiamina, 2,3; riboflavina, 2,3; clorhidrato de piridoxina, 15; cianocobalamina, 25; nicotinamida, 15; ácido pantoténico, 6; ácido fólico, 0,65; biotina, 0,07; ácido ascórbico, 75; inositol, 15; betaína, 100; polipéptidos 12.

El contenido en aminoácidos de los piensos experimentales puede verse en la Tabla 5.

Tabla 5: Composición en aminoácidos de las dietas experimentales (g 100g⁻¹ de materia seca)

	Dietas experimentales		
	FM 30	FM 15	FM 0
AAE (g 100g⁻¹)			
Arginina	3.39	3.86	3.58
Histidina	1	0.81	0.81
Isoleucina	1.47	1.24	1.08
Leucina	3.24	3.11	2.45
Lisina	3.68	2.78	2.38
Metionina	1.16	1.06	1.05
Fenilalanina	1.8	1.78	1.76
Treonina	1.98	1.5	1.28
Valina	2.01	1.6	1.32
AANE (g 100g⁻¹)			
Alanina	2.74	2.14	1.66
Aspartato	4.29	3.68	3.09
Cisteína	0.61	0.62	0.67
Glutamina	7.64	9.66	10.86
Glicina	2.44	2.28	2.09
Prolina	2.3	2.72	3.49
Serina	2.11	1.96	1.87
Tirosina	1.5	1.02	1.02

AAE: Aminoácidos esenciales; AANE: Aminoácidos no esenciales

Los piensos se fabricaron mezclando individualmente cada uno de los componentes secos (harinas, aceites, vitaminas), tras su pesado en la báscula. Se realizó un premezclado de todos, exceptuando los aceites para evitar que se formasen grumos. Posteriormente, se procedió a la introducción de todos los ingredientes en una mezcladora

durante 20 minutos, donde se adicionaron los aceites cuando todos los ingredientes ya estaban mezclados.

Por último, el pienso se introdujo en el Extruder (figura 6) y se extrusionó a las siguientes condiciones de velocidad, presión y temperatura determinadas, las cuales son 100 r.p.m., 40-50 atm y 100-110°C respectivamente, con un tamaño del pellet de 2-4 mm.



Figura 6: Detalle de la boquilla del Extruder y pienso producido.

Fuente: Imagen propia.

3.4.-Control de crecimiento

Mensualmente se realizó un control del crecimiento (muestreo) para conocer la evolución del peso de los animales. Para ello, los peces ayunaron las 24 horas anteriores al control.

La metodología que se llevó a cabo fue la extracción de todas las lubinas correspondientes a un mismo tanque (aprovechando el vacío para su limpieza). Seguidamente se colocaron en cubos llenos de agua a los que se añadió esencia de clavo (anestésico) que facilitó el manejo de los animales.



Figura 7: Lubinas extraídas para pesaje, anestesiadas con esencia de clavo.

Fuente: Imagen propia.

Durante los muestreos realizados al inicio y final del experimento, se pesaron individualmente mientras que, en el resto, se pesaron en biomasa entre 2 y 6 peces al mismo tiempo para agilizar el trabajo, dependiendo del tamaño. Una vez pesados, los peces se devolvieron a sus correspondientes tanques, de una forma delicada, evitando que estos se estresaran demasiado.

Los parámetros de crecimiento y eficiencia nutritiva expuestos en el presente trabajo se obtuvieron mediante las siguientes expresiones:

- **Tasa de crecimiento instantáneo (TCI), (%/día):**

$$TCI = \frac{\ln_{PESO\ MEDIO\ FINAL} - \ln_{PESO\ MEDIO\ INICIAL}}{tiempo} * 100$$

- **Tasa de alimentación diaria (TAD), (%/día):**

$$TAD = \frac{Ingesta_{TOTAL}}{\left(\frac{Biomasa_{FINAL} + Biomasa_{INICIAL}}{2}\right) * tiempo} * 100$$

- **Índice de conversión del alimento (ICA):**

$$ICA = \frac{Ingesta_{TOTAL}}{(Biomasa_{FINAL} - Biomasa_{INICIAL})}$$

3.5.- Biometrías

Al comienzo y final del experimento, se tomaron al azar cinco lubinas de cada tanque. Éstas se reservaron para los análisis corporales posteriores que determinarían las características fisiológicas y parámetros corporales de la lubina.

Los parámetros medidos durante la realización de los análisis biométricos de los peces a final de la prueba se detallan a continuación:

- **Longitud total (cm):** medida desde el extremo de la mandíbula hasta el extremo de los radios de la aleta caudal.
- **Peso total (g):** peso individual de cada animal entero, tras su sacrificio.
- **Peso de la canal (g):** peso individual de cada animal tras haberle extraído todo el contenido visceral.
- **Peso visceral (g):** peso del contenido visceral del animal (digestivo, grasa visceral, corazón, gónadas y bazo).
- **Peso del hígado (g):** peso del hígado entero y la vesícula biliar.
- **Peso grasa visceral (g):** peso de la grasa contenida en el paquete visceral



Figura 8: Banco de trabajo para la realización de las biometrías.
Fuente: Imagen propia.

Realizadas las biometrías y conocidos todos los parámetros anteriores, se procedió al cálculo de los índices biométricos, obtenidos mediante las siguientes expresiones:

- **Factor de condición (FC):**

$$FC = \frac{\text{Peso}_{TOTAL} (g)}{\text{Longitud}_{TOTAL}^3 (cm)} * 100$$

- **Índice viscerosomático (IVS), (%):**

$$IVS = \frac{\text{Peso}_{TOTAL VISCERAS} (g)}{\text{Peso}_{TOTAL} (g)} * 100$$

- **Índice hepatosomático (IHS), (%):**

$$IHS = \frac{\text{Peso}_{HIGADO} (g)}{\text{Peso}_{TOTAL} (g)} * 100$$

- **Índice de grasa visceral (IGV), (%):**

$$IGV = \frac{\text{Peso}_{GRASA VISCERAL} (g)}{\text{Peso}_{TOTAL} (g)} * 100$$

3.6. Análisis químico

Los análisis de las materias primas, piensos y peces se llevaron a cabo en el Laboratorio de la Unidad de Alimentación del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València. Cada análisis se realizó por triplicado para asegurar que los resultados que se obtenían eran correctos y fiables. Las muestras se colocaron en botes rotulados, identificando el tanque y el tratamiento que recibía cada pez. Su conservación durante el período de análisis fue en un refrigerador a 4-5°C. Todos los procedimientos que se llevaron a cabo en cada uno de los análisis para determinar la composición de las dietas y la composición del pescado siguieron la metodología de la AOAC (1990):

- La materia seca se obtuvo introduciendo la muestra en una estufa de desecación a 105°C hasta que se alcanzó el peso constante por deshidratación.
- Las cenizas se obtenían por calcinación de la muestra, a 550°C hasta alcanzar el peso constante.
- Para determinar el contenido de proteína de la muestra se empleó el método de Dumas (método 968.06) en un equipo que determina la presencia de Nitrógeno existente llamado LECO modelo CN628, utilizándose el factor de conversión de nitrógeno de $N \times 6.25$
- Para determinar el contenido de grasa bruta en la muestra, se siguió el procedimiento establecido por la metodología de la AOCS en un extractor de grasa llamado ANKOM XT10. (Figura 9)
- Los aminoácidos se analizaron mediante el sistema Waters HPLC con el método AQC (Waters 474, Waters, Milford, MA, EE.UU.).



Figura 9 Extractor de grasa ANKOM XT10
Fuente: Imagen propia

Tras los análisis de los peces iniciales, finales y de los diferentes piensos, se obtuvieron las eficiencias de retención mediante las siguientes fórmulas:

- **Valor Productivo de la proteína (VPP), (%):**

$$VPP = \left(\frac{\text{Proteína retenida}}{\text{Proteína ingerida}} \right) \times 100$$

- **Valor productivo de la grasa (VPG), (%):**

$$VPG = \left(\frac{\text{Grasa retenida}}{\text{Grasa ingerida}} \right) \times 100$$

- **Valor productivo de la Energía (VPE), (%):**

$$VPE = \left(\frac{\text{Energía retenida}}{\text{Energía ingerida}} \right) \times 100$$

3.7. Análisis estadístico.

Los análisis estadísticos de este trabajo se realizaron con el programa estadístico StatGraphics Plus 5.1 (Copyright 1994 – 2001, Statistical Graphics Corp.).

Para hallar las diferencias estadísticas entre las variables de los diferentes tratamientos aplicados en el experimento, se hizo un análisis de varianza multivariante. Los resultados se expresaron como la media \pm ES (error estándar de la media), indicándose con una n, el número de observaciones.

En las variables de crecimiento, TCI y peso medio final, se empleó como covariable el peso medio inicial de los peces. La inferencia se realizó con un riesgo de primera especie de 0,05, correspondiente a un intervalo de confianza del 95%.

IV. Resultados.

4.1. Crecimiento y parámetros nutritivos

En la Figura 10 se muestra la evolución de los pesos durante el experimento de las lubinas alimentadas con las tres dietas experimentales a lo largo del experimento. Al inicio empezaron con incrementos de pesos similares y a partir del tercer mes ya se fueron mostrando diferencias entre las lubinas alimentadas con el pienso sin harina de pescado (FM 0) y los otros dos (FM 30 y FM15)

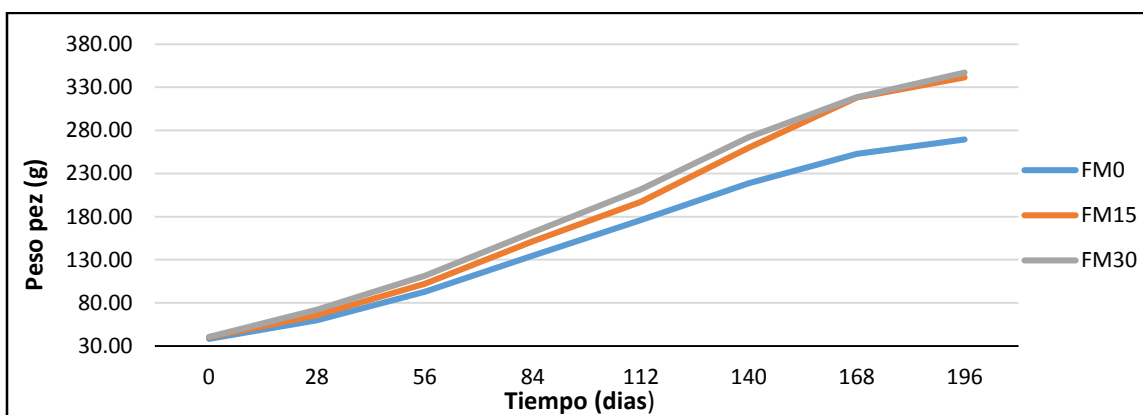


Figura 10 Evolución del crecimiento de pesos según el pienso experimental consumido

Respecto al crecimiento como ya se apreciaba en la Figura 10, los peces alimentados con el pienso FM 0, crecieron significativamente menos que el resto, como vemos tanto en el peso final como en el TCI, no encontrando diferencias entre las lubinas alimentadas con los piensos FM 30 y FM 15. Este menor crecimiento con el pienso FM0 no estuvo relacionado con una menor ingesta, puesto que la tasa de alimentación diaria fue similar con todos los tratamientos. (Tabla 6)

También estuvo afectada la supervivencia, en caso de las lubinas alimentadas con el pienso sin harina de pescado hay una mayor tasa de mortalidad de un 16 %

Tabla 6 Crecimiento, parámetro nutritivos y supervivencia de lubinas alimentadas con los diferentes piensos experimentales

	FM 0	FM 15	FM 30
PI (g)	38,25 ^a	40,29 ^b	40,45 ^b
	± 0,93	± 0,93	± 0,93
PF(g)	269,49 ^a	341,38 ^b	347,0 ^b
	± 8,70	± 8,70	± 8,70
TCI¹	0,99 ^b	1,08 ^a	1,09 ^a
	± 0,21	± 0,21	± 0,21
TAD (%/día)²	1,19	1,22	1,19
	± 0,02	± 0,02	± 0,02
ICA (g 100 /g pez/día)³	1,58	1,53	1,47
	± 0,04	± 0,04	± 0,048
Supervivencia (%)	84,0 ^b	92,7 ^a	93,3 ^a
	± 2,4	± 2,4	± 2,4

Los valores representan la media ± error estándar (n = 3). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas a p<0,05. Test de Newman-keuls. PI: Peso inicial; PF: Peso final; TAD: Tasa de alimentación diaria. ICA: Índice de conversión del alimento; CEC: Coeficiente de eficacia de crecimiento.

4.2.-Parámetros biométricos, composición corporal y retención de nutrientes

Los parámetros biométricos de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas se presentan en la Tabla 7.

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el IHS y el IGV. Sin embargo, el factor de condición fue menor en las lubinas alimentadas con el pienso control, FM 30 (1,34 g/cm³) que en las alimentadas con los otros dos piensos (1,47 g/cm³ para FM 15 y 1, 48 g/cm³ para FM 0). De igual forma sucedió con el índice viscerosomático

Tabla 7 Índices Biométricos de *D. labrax*, composición proximal, eficiencia de retención (datos expresados en % de materia seca al final del experimento).

	FM 0	FM 15	FM 30
FC (g/cm ³) ¹	1,48 ^a ± 0,034	1,46 ^a ± 0,034	1,34 ^b ± 0,034
IVS (%) ²	13,34 ^{ab} ± 0,55	14,21 ^a ± 0,55	11,98 ^b ± 0,55
IHS (%) ³	1,84 ± 0,11	1,91 ± 0,11	2,14 ± 0,11
IGV (%) ⁴	5,68 ± 0,69	7,45 ± 0,69	5,43 ± 0,69

Los valores representan la media ± error estándar (n = 5). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas a p<0,05. Test de Newman-Keuls.

¹Facto De Condición: 100 x peso total(g)/volumen total (cm³)

²Índice viscerosomático (%), IVS = 100 x Peso de vísceras (g)/peso total (g)

³Índice Hepatosomático (%) IHS = 100 x peso de hígado (g) / peso total (g)

⁴Índice de grasa visceral (%) IGV = 100 x peso de grasa visceral (g) / peso de total (g)

⁵ Eficiencia de retención de proteína (%) PIR = proteína ganada por pez (g)/proteína ingerida (g) x 100

Los análisis de composición proximal tanto de peces al inicio como al final del experimento y las eficiencias de retención se muestran en la Tabla 8. Se puede observar, que no se encontraron diferencias significativas en la grasa, materia seca y cenizas de los peces alimentados con las diferentes dietas.

Para el caso de los valores de productivos de la proteína y grasa solo se encontraron diferencias significativas en el VPG entre los tratamientos FM 30 y FM 15, siendo superior en el caso de las lubinas alimentadas con el pienso FM15.

Se puede observar que no hay diferencias significativas tanto entre los peces iniciales y los peces finales de los tratamientos (% en peso húmedo) en función a la proteína. De igual manera no se encuentran diferencias significativas en caso de grasa, ceniza y energía de los peces entre los tres tratamientos.

Tabla 8 Composición proximal inicial y final (% en peso húmedo), contenido de energía bruta (KJg⁻¹) y valores productivos en *D. labrax* alimentadas con las diferentes piensos experimentales.

	Iniciales	FM 0	FM 15	FM 30
Materia seca (%)	26,1	37,77	39,56	36,913
		± 0,63	± 0,63	± 0,63
Proteína (%)	16,1	17,51	17,42	17,45
		± 0,36	± 0,36	± 0,36
Grasa (%)	4,7	16,76	18,29	15,8
		± 0,75	± 0,75	± 0,75
Cenizas (%)	8,6	4,14	4,17	3,71
		± 0,20	± 0,20	± 0,20
Energía (kJ)	19,5	27,35	27,91	26,73
		± 0,34	± 0,34	± 0,34
VPP (%)		24,11	23,945	25,33
		± 0,86	± 0,86	± 0,86
VPG (%)		69,78 ^a	84,26 ^b	76,34 ^{ab}
		± 3,81	± 3,81	± 3,81

VPP= Valor productivo de proteína (%) = Proteína retenida (proteína del pez final x Biomasa final (g) x100 – Proteína pez inicial x biomasa inicial (g) / Proteína ingerida (Kg alimento ingerido x% proteína bruta)

VPG= Valor productivo de grasa (%) = Grasa retenida (grasa del pez final x Biomasa final (g) x100 – grasa del pez inicial x biomasa inicial (g) / Grasa ingerida (Kg alimento ingerido x% grasa bruta)

VPE= Valor Productivo de Energía (%) = Energía retenida (Energía del pez final x Biomasa final (g)) x100 – Energía del pez inicial x biomasa inicial (g) / energía ingerida (kg alimento ingerido *% proteína bruta)

Se puede observar que no hay diferencias significativas tanto entre los peces iniciales y los peces finales de los tratamientos (% en peso húmedo) en función a la proteína. De igual manera no se encuentran diferencias significativas en caso de grasa, ceniza y energía de los peces entre los tres tratamientos.

V. DISCUSIÓN

Las proteínas de origen vegetal son una alternativa sostenible para sustituir la harina de pescado, especialmente en dietas de especies carnívoras marinas y continentales (Opstvedt et al., 2003; Refstie et al., 2001; Carter y Hauler, 2000). Estas proteínas presentan ciertos inconvenientes como poseer una baja palatabilidad, ser deficientes en aminoácidos esenciales y la presencia de factores anti-nutricionales (Francis et al. 2001). En el presente trabajo se ha comprobado que una inclusión de únicamente el 15% de harina de pescado en dietas para lubina es posible, ya que no afecta negativamente ni al crecimiento ni a los parámetros nutritivos, lo que es un gran paso en busca de una mejora en la rentabilidad y sostenibilidad en la producción de esta especie.

La supervivencia no se vio afectada con una reducción de la harina de pescado hasta un 15%, sin embargo las lubinas alimentadas con la dieta sin harina de pescado sí presentaron una mayor mortalidad, un 16 %, no siendo el motivo la falta de ingesta, ya que cómo se ha comprobado la tasa de alimentación diaria fue similar en todos los tratamientos. Otros autores también han podido comprobar que en especies carnívoras los peces alimentados con dietas sin harina de pescado comen activamente en un principio, teniendo un crecimiento bueno, pero con el tiempo el crecimiento se estanca y aumenta la mortalidad, debido normalmente a causas infecciosas ((Maita et al., 1998). Además, en general se ha comprobado que los peces alimentados con dietas sin harina de pescado durante un periodo prolongado padecen cuadros de anemia e hipocolesterolemia (Maita et al., 1997, 1998, 2006), lo que está pendiente de obtención de resultados en el presente trabajo. La susceptibilidad al oportunismo de infecciones debidas al debilitamiento del sistema inmunitario de los peces también ha sido observada en otras especies (Estruch et al., 2015) cuando los peces se alimentaron sin harina de pescado.

Al final del experimento los crecimientos obtenidos por los peces alimentados con las dietas FM 30 y FM 15 (30 % y 15 % de inclusión de harina de pescado) fueron similares, a diferencia que con el pienso sin harina de pescado, cuyos peces crecieron significativamente menores. De igual forma Adamidou et al. (2009) también comprobaron el buen crecimiento en piensos con bajos niveles de harina de pescado,

aunque en su caso fue superior al del presente trabajo, un 25% frente a un 15%, con todas las combinaciones de leguminosas que probaron. Todas las dietas dieron satisfactorios coeficientes de digestibilidad, de crecimiento, y parámetros nutritivos. Trabajos anteriores con fuentes vegetales han demostrado que la sustitución parcial de la harina de pescado (Tibaldi et al., 1999; Días, 1999) es posible en la lubina europea. Pero altas sustituciones de estos ingredientes de forma única afectan negativamente a los parámetros productivos. Días (1999) observó que la inclusión de concentrados de proteína de soja y gluten de maíz como única fuente de proteína redujo significativamente del crecimiento. Únicamente en el trabajo de Kaushik et al. (2004) se obtuvieron buenos resultados con altas sustituciones, no encontrando diferencias significativas entre lubinas alimentadas con un máximo de un 52 y un mínimo de un 5% de harina de pescado en los piensos.

En otras especies, las sustituciones totales de harina de pescado por otras fuentes proteicas alternativas no han obtenido buenos resultados en la gran mayoría de los casos (De Francesco et al., 2007). Aunque hay trabajos en los que estas altas o totales sustituciones sí han funcionado bien, como es el caso de los trabajos de Sánchez-Lozano et al. (2009) y Monge-Ortiz et al. (2016) en dorada, consiguiendo una sustitución total de la harina de pescado en este último trabajo.

No se encontraron diferencias en las tasas de alimentación con ninguno de los tratamientos utilizados, independientemente del nivel de harina de pescado, , por lo que las materias primas vegetales utilizadas no afectaron a la palatabilidad de las dietas, como sí se ha comprobado en otras investigaciones en trucha arco iris y lubina europea, donde sugieren un mal crecimiento con piensos con altos niveles de fuentes vegetales como consecuencia de una baja ingesta (Gomes et al., 1995; Dias, 1999). Tibaldi et al. (1999) pudieron comprobar que en piensos con altas sustituciones de la harina de pescado por fuentes vegetales en lubina, la ingesta no disminuyó, aun no añadiendo ningún tipo de atrayente, simplemente por el hecho de añadir aminoácidos esenciales, lo que podría coincidir con lo ocurrido en este trabajo. Por otro lado M. Øverland et al. (2008) comprobó que con harina de guisante puede sustituir el 20% de la proteína de harina de pescado de alta calidad en el alimento para el

salmón del Atlántico sin efectos adversos en el rendimiento del crecimiento, la digestibilidad de los nutrientes y la composición de la canal.

Los resultados de composición proximal y valores productivos al final del experimento indican al igual que para los resultados de crecimiento y parámetros nutritivos que no hay efecto independientemente del tratamiento. Únicamente se encontraron diferencias en la eficiencia de retención de la grasa que resultó ser mayor con la dieta FM 15 y menor con la FM 0. Esto coincide con el trabajo de Adamidou et al. (2009) que no mostró efectos negativos sobre la composición proximal de las lubinas independientemente de las leguminosas utilizadas en dietas con bajos niveles de harina de pescado. Sin embargo, Kaushik et al. (2004) sí observaron un aumento significativo en el contenido de grasa disminuir el contenido de harina de pescado en las dietas, lo que dicho autores atribuyeron a una mayor lipogénesis con niveles de decrecientes de esta materia prima.

VI. CONCLUSIONES

Una vez analizados los resultados obtenidos tras reducir al máximo el nivel de inclusión de la harina de pescado por fuentes proteicas vegetales en la alimentación de la lubina, podemos concluir:

- La sustitución total de la harina de pescado en juveniles de lubina tiene un efecto negativo en el crecimiento.
- Las materias primas utilizadas como sustitutos proteicos de la harina de pescado en el presente trabajo, el turtó de soja y el gluten de trigo, no han producido efectos negativos en la palatabilidad de los piensos.
- Las altas sustituciones de la harina de pescado afectan a los parámetros biométricos de la lubina, siendo el factor de condición y el índice viscerosomático menores en la dieta control que en sustituciones mayores de harina de pescado.
- La composición corporal de los peces y las eficiencias de retención son similares independientemente del nivel de inclusión de harina de pescado, únicamente la eficiencia de retención de la grasa se vio perjudicada con la dieta que únicamente contenía ingredientes vegetales.

Por lo tanto, podemos decir que la alimentación de la lubina con piensos que contienen únicamente un 15 % de harina de pescado es posible, ya que ni los parámetros productivos ni la composición corporal se ven afectados negativamente.

VII BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. Oficial method of analysis. Association of Official Analytical Chemistry. 16th edición, Ed. By Hoorwitz, N., P. Chialo, y H. Reynold, Washington, USA (1990).
- Adamidou, S.; Nengas, I.; Henry, M.; Grigorakis, K.; Rigos, G.; Nikolopoulou, D.; Kotzamanis, Y.; Bell, G.J.; Jauncey, K., 2009. Growth, feed utilization, health and organoleptic characteristics of European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets including low and high levels of three different legumes. *Aquaculture*, 293: 263-271.
- Carter, C., Hauler, R., 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 185: 299-311.
- De Francesco, M., Parisi, G., Perez-Sanchez, J., Gomez-Requeni, P., Medale, F., Kaushik S.J., Mecatti, M., Poli, B.M. 2007. Effect of high level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. *Aquaculture Nutrition*, 13: 361 – 372.
- Dias, J., Gomes, E.F., Kaushik, S.J., 1997. Improvement of feed intake through supplementation with an attractant mix in European seabass fed plant-protein rich diets. *Aquat. Living Resour.* 10: 385 – 389.
- Dias, J. (1999) Lipid Deposition in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) : Nutritional control of Hepatic Lipogenesis. University of Porto, Porto, Portugal and University of Bourdeaux france, 190 pp.
- Dias, J.; Alvarez, M.J.; Arzel, J.; Corraze, G.; Bautista, J.M.; Kaushik, S.J., 2005. Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Comp.Biochem. Physiol. A*, 142: 19-31.
- Días, J., Conceição, L., Ramalho Ribeiro, E.C., Borges, A., Valente, L.M.P., Dinis, M.T., 2009. Practical diet with low fish-derived protein is able to sustain growth performance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during the growth-out phase. *Aquaculture*, 293: 255 – 262.

- Estruch, G., Collado, M. C., Peñaranda, D. S., Vidal, A. T., Cerdá, M. J., Martínez, G. P., & Martínez-Llorens, S. (2015). Impact of fishmeal replacement in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on the gastrointestinal microbiota determined by pyrosequencing the 16S Rrna gene. *PLoS One*, 10: e0136389.
- European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products, 2018 'El mercado pesquero de la UE', *Comision Europea Edicion 2018*, p. 1–130 . doi: 10.4272/978-84-9745-196-3.ch1.
- FAO. 2008. Aumento de los precios de los alimentos: Hechos, perspectivas, impacto, acciones requeridas [en línea]. Inf. 1. Roma, FAO. [Citado 13 Marzo 2015]
Disponibile en
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/foodclimate/HLCdocs/HLC08-inf-1-S.pdf
- Francis, G.; Makkar, H.P.S.; Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199: 197–227.
- Gomes, E.F., Rema, P., Kaushik, S.J., 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130: 177 – 186.
- Gouveia. A.; Davies. S.J., 1998. Preliminary nutritional evaluation of pea seed meal (*Pisum sativum*) for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)
Aquaculture, 166: 311–320.
- Gouveia, A. and Davies, S.J. (2000) Inclusion of an extruded dehulled pea seed meal in diets for juveniles European Seabass (*Dicentrarchus labrax*).*Aquaculture*, 182: 183.193.
- Kaushik, S.J.; Coves, D.; Dutto, G.; Blanc, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European Seabass, (*Dicentrarchus labrax*.) *Aquaculture*, 230: 391-404.
- LECO CN628 Manual. Version 1.3x, Part Number 200-747 (2014). LECO Corporation.
www.leco.com

- Maita, M., Aoki, H., Yamagata, Y., Watanabe, K., Satoh, S., & Watanabe, T. (1997). Green liver observed in yellowtail fed non-fish meal diet. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 63: 400–401
- Maita, M., Satoh, K., Fukuda, Y., Lee, H.-K., Winton, J. R., & Okamoto, N. (1998). Correlation between plasma component levels of cultured fish and resistance to bacterial infection. *Fish Pathology*, 33: 129–133
- Maita, M., Maekawa, J., Satoh, K. I., Futami, K., & Satoh, S. (2006). Disease resistance and hypocholesterolemia in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed a non-fishmeal diet. *Fisheries Science*, 72: 513–519.
- Manual ANKOM XT10. ANKOM Technology, Los Angeles, 2016
- Oliva-Teles, A., Gonçalves, P., 2001. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 202: 269 – 278.
- Opstvedt, J., Aksnes, A., Hope, B., Pike, I.H., 2003. Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins. *Aquaculture*, 221: 365-379.
- Øverland M, Sørensen M, Storebakken T, Penn M, Krogdahl Å, Skrede A. 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* 2009, 288: 305-11.
- Raquel Monge-Ortiz, Silvia Martínez-Llorens, Lorenzo Márquez, Francisco Javier Moyano, Miguel Jover-Cerdá & Ana Tomás-Vidal (2016) Potential use of high levels of vegetal proteins in diets for market-sized gilthead sea bream (*Sparus aurata*), *Archives of Animal Nutrition*, 70: 155-172. DOI: 10.1080/1745039X.2016.1141743.
- Refstie, S., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Roem, A.J., 2001. Longterm protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. *Aquaculture* 193, 91–106.

- Sánchez–Lozano, N.B., Martínez–Llorens, S., Tomás–Vidal, A., Jover Cerdá, M., 2009. Effect of highlevel fish meal replacement by pea and rice concentrated protein on growth, nutrient utilization and fillet quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) Aquaculture, 298: 83 – 89.
- Tibaldi, E., Tulli, F., Amerio, M., 1999. Feed intake and growth responses of sea bass (*D. labrax*) fed different plant-protein sources are not affected by supplementation with a feeding stimulant. In: Piva, G., Bertoni, G., S.J. Kaushik et al. / Aquaculture 230 (2004) 391–404 403
- Tibaldi, E. and Kaushik, S.J., 2005. Amino acid requirements of Mediterranean fish species. Cahiers Options Méditerranéennes, 63, 59-65.
- Tomás, A., Martínez-Llorens, S., Jesus-Moriñigo, J.V., Planas, B., M. Jover., 2011. ¿Piensos sin harina de pescado? Sí es posible. Libro Resúmenes XIII CNA. Castelldefels
- UNE-EN ISO 16634-1. 2009. Productos alimenticios. Determinación del contenido en nitrógeno total por combustión de acuerdo con el principio Dumas y cálculo del contenido de proteína bruta. Parte 1: Semillas oleaginosas y alimentos para animales.