

Tesis defendida por
Jorge Madrid Hernández
y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera
Director del Comité

Dra. María Teresa Viana Castrillón
Miembro del Comité

Dr. Manuel Alberto Segovia
Quintero
Miembro del Comité

Dr. Oscar Sosa Nishizaki
Miembro del Comité

Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Coordinador
Programa de Posgrado en Ciencias
en Acuicultura

Dr. Jesús Favela Vara
Director de la
Dirección de Estudios de Posgrado

Febrero de 2014

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR
DE ENSENADA, BAJA CALIFORNIA**



Programa de posgrado en ciencias
en Acuicultura

Efecto de la sustitución en dieta de harina de pescado con harina de productos de origen animal, en juveniles de corvina golfina, *Cynoscion othonopterus*.

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Jorge Madrid Hernández

Ensenada, Baja California, México
2014

Resumen de la tesis de Jorge Madrid Hernández, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Efecto de la sustitución en dieta de harina de pescado con harina de productos de origen animal, en juveniles de corvina golfina *Cynoscion othonopterus*.

Resumen aprobado por:

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera

Resumen

La corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) es una especie endémica del norte del golfo de California considerada importante por su valor comercial y pesca deportiva. Esta especie representa una alternativa de cultivo en México, en especial para los estados donde el cultivo de camarón ha experimentado diversos problemas por enfermedades. Es bien conocido que los costos de alimentación representan el mayor gasto en la acuicultura y encontrar una dieta adecuada para esta especie es una prioridad para su cultivo. Por el perfil de aminoácidos esenciales y su alto contenido proteico, la harina de pescado es la fuente de proteína más recomendable para la elaboración de las dietas por su buena digestibilidad. Sin embargo, debido a la sobreexplotación de este recurso y para aumentar la sustentabilidad de la acuicultura, en la actualidad se buscan otras fuentes proteicas alternativas a la harina de pescado. En el presente estudio se evaluaron cuatro dietas isoprotéicas (50%) e isolipídicas (9%) en donde se incrementó el nivel de sustitución de la harina de pescado (0, 33, 66 y 100%) por harina experimental elaborada con harina de subproducto de ave y harina de calamar en una relación 3:1 en partes iguales (dietas: HSPC0%, HSPC33% HSPC66%, HSPC100%, respectivamente). Cada tratamiento se evaluó por triplicado con 10 juveniles, con un peso inicial promedio de 33.3 ± 1.7 , por repetición. Se utilizaron 12 tanques de 200L conectados a un sistema de recirculación, con agua de mar a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Se alimentaron los juveniles a saciedad aparente en tres raciones diarias durante 99 días. Se utilizaron como variables de respuesta el crecimiento, la supervivencia, la eficiencia alimenticia y la digestibilidad aparente. Al final del bioensayo, se registró un peso final promedio significativamente ($P < 0.05$) mayor ($67.6\text{g} \pm 6.9$) y una supervivencia mayor ($85\% \pm 7.1$) en los peces alimentados con la dieta HSPC100%. Los juveniles con menor crecimiento y supervivencia fueron los alimentados con la dieta HSPC0% (51.6 ± 4.5 y $56.6\% \pm 15.3$, respectivamente). De igual forma la dieta HSPC100% resultó con valores de digestibilidad de la materia seca ($68.3\% \pm 1.6$) significativamente mayores con respecto a las otras dietas, explicando en parte el mejor desempeño de los juveniles alimentados con esta dieta. Con base en estos resultados, podemos concluir que la harina experimental de origen animal (HSPC) evaluada en el presente estudio puede sustituir hasta en un 100% a la harina de pescado

utilizada en dietas para juveniles de la corvina golfina sin afectar negativamente los parámetros de producción.

Palabras clave: ***Corvina, sustitución, harina de origen animal, digestibilidad.***

Abstract of the thesis presented by Jorge Madrid Hernández as a partial requirement to obtain the Master in Science degree in Aquaculture

The effect of fishmeal replacement with poultry-by-product meal and squid meal on growth, survival, feed efficiency and diet digestibility in Gulf corvina *Cynoscion othonopterus*.

Abstract approved by:

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera

Abstract

The Gulf corvina (*Cynoscion othonopterus*) is a species from the Gulf of California with great potential for aquaculture in Mexico, in particular for the states where the shrimp industry is experiencing low production due to disease related problems. As with most species development of adequate low-cost diets for grow-out is essential. Fishmeal is commonly used in diets of marine fishes due to its excellent nutritional value from the high protein content, amino acid profile and good digestibility. However, the current trend in fish diet formulation is to replace fishmeal and fish oil with alternative proteins and oils without reducing the nutritional value of diets. Thus, the objective of the present study was to evaluate the substitution on fishmeal with poultry by-product meal (PBPSM, combined with squid meal at a ratio of 3:1) in diets for juvenile Gulf corvinas. Four levels of fishmeal substitution (PBPSM 0%, 33%, 66%, 100%) were evaluated using isonitrogenous (50% protein) and isolipidic (9% lipids) diets. Each dietary treatment was evaluated in triplicate using 10 juvenile Gulf corvinas (mean initial weight $33.3\text{g} \pm 1.7$) stock in 12-200L fiberglass tanks connected to a saltwater recirculating system held at $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Fish were fed to apparent satiation three times per day for a period of 99 days. Growth, survival, feed efficiency and diet digestibility were used as response variables. At the end of the feeding trial, significantly higher ($P < 0.05$) growth ($67.6\text{g} \pm 6.9$) and survival ($85\% \pm 7.1$) were obtained with fish fed the diet with 100% fishmeal substitution (PBPSM100%). In addition, significantly higher digestibility's values ($68.3\% \pm 1.6$) were obtained with this diet, which would help explain the better performance of fish fed this diet. Lowest growth, survival and digestibility values were obtained with fish fed the PBPSM0% diet. Based on the results obtained from the present study we can conclude that up to 100% of the fishmeal can be replaced by PBPSM (combined with squid meal at a ratio of 3:1) without affecting growth, survival and feed efficiency, thus potentially reducing the use of fishmeal in diets for this species.

Keywords: ***Corvina, substitution, animal products meal, digestibility.***

Dedicatorias

A mis padres: Paty y Gustavo, por todo su amor, cariño y comprensión.

A mis hermanos: Pancho, Guicho y Beto, por darme todo su apoyo y siempre estar ahí cuando los necesito.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al Departamento de Acuicultura por haberme otorgado la oportunidad de realizar mi maestría.

A CONACYT, por facilitarme la beca para llevar a cabo mis estudios de maestría.

A mi director de tesis, Dr. Juan Pablo Lazo, por su apoyo, paciencia, enseñanzas y sobre todo su amistad. Gracias doc.

A mi comité evaluador:

Dra. M. Teresa Viana, por su aporte de conocimiento en mi tesis, por todo su apoyo y disposición para facilitarme las instalaciones de su laboratorio para la elaboración de las dietas y la evaluación de digestibilidad.

Al Dr. Manuel Segovia, por siempre estar disponible para aportar conocimiento al manejo de mi sistema durante mi bioensayo además de su gran aporte a esta tesis.

Al Dr. Oscar Sosa por su disponibilidad de tiempo y valioso aporte de conocimiento a mi tesis.

Al los Doctores del departamento de acuicultura del CICESE por sus enseñanzas: Dra. Beatriz Cordero, Dra. Mónica Hernández, Dra. Pilar Sánchez, Dra. Carmen Paniagua, Dra. Fabiola Lafarga, Dra. Claudia Farfán, Dr. Benjamín Barón, Dr. Jorge Cáceres, Dr. Miguel Del Río, Dr. Eugenio Díaz y Dra. Marysabel Báez.

A todos los que me ayudaron durante mi bioensayo y análisis de laboratorio: Víctor Torres, Jesús Mariscal, Uvinai Salgado, Marisol Simón, Adrian Celaya y Daniel Badillo.

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO).

Al Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES) y al M.C. Francisco Hoyos, por la donación de los organismos utilizados para este experimento.

A Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. (PROTMAGRO) así como a la Ing. Lilia Marín y a Germán Dávalos por la donación de las harinas para la elaboración de las dietas en este experimento.

A mis compañeros de generación:

David, Pablo, Paul, Luis, Raquel, Roberto, Miriam, Rigoberto, Araceli y Omar.

A TODOS MUCHAS GRACIAS!

Contenido	
Resumen.....	ii
Abstract.....	iv
Dedicatorias.....	v
Agradecimientos.....	vi
Lista de figuras.....	ix
Capítulo 1.....	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Antecedentes.....	4
1.2.1 Corvina golfina.....	4
1.2.2 Proteínas.....	5
1.2.3 Sustitución de la harina de pescado.....	7
1.2.4 Utilización de harina de subproducto de ave.....	10
1.2.5 Utilización de harina de calamar.....	13
1.2.6 Digestibilidad.....	15
Capítulo 2.....	17
2.1 Objetivos.....	17
2.1.1 Objetivo general.....	17
2.1.2 Objetivos específicos.....	17
2.2 Hipótesis.....	18
Capítulo 3.....	19
3.1 Materiales y métodos.....	19
3.1.1 Formulación de dietas.....	19
3.1.2 Elaboración de las dietas.....	21
3.1.3 Condiciones de cultivo.....	22
3.1.4 Crecimiento.....	24
3.1.5 Supervivencia.....	24
3.1.6 Alimento consumido.....	24
3.1.7 Tasa de conversión alimenticia.....	25
3.1.8 Tasa de eficiencia proteica.....	25
3.1.9 Valor productivo de la proteína.....	25
3.1.10 Digestibilidad aparente (%).....	25
3.1.11 Análisis químico proximal.....	26
3.1.12 Análisis estadístico.....	27
Capítulo 4.....	28
Resultados.....	28
4.1 Crecimiento en peso (g).....	28
4.2 Tasa de crecimiento específico.....	29
4.3 Supervivencia.....	30
4.4 Alimento consumido.....	30
4.5 Digestibilidad Aparente (%).....	31
4.6 Eficiencia alimenticia.....	31
4.6.1 Tasa de conversión alimenticia.....	31
4.6.2 Tasa de eficiencia proteica (%).....	32

4.6.3	Valor productivo de la proteína.....	32
4.7	Composición proximal del músculo de corvina golfina.....	32
Capítulo 5.....		34
Discusión		34
5.1	Crecimiento.....	34
5.2	Supervivencia	37
5.3	Consumo de alimento	37
5.4	Digestibilidad aparente.....	38
5.5	Eficiencia alimenticia.....	40
5.6	Composición proximal del músculo.....	41
Recomendaciones		43
Referencias bibliográficas		44

Lista de figuras

Figura		Página
1	Figura 1. <i>Cynoscion othonopterus</i> . FAO, 2013. Recuperado de http://www.fishbase.us/summary/Cynoscion-othonopterus.html	1
2	Figura 2. Utilización de harina de pescado actual y pronosticado en la acuicultura y porcentaje de harina de pescado utilizados para la elaboración de alimentos acuícolas. (Imagen obtenida de FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2012. p 177).	9
3	Figura 3. Proceso de elaboración de las dietas. A: mezcla de los ingredientes, B: peletización de las dietas, C: secado y D: almacenamiento.	21
4	Figura 4. Tanques de cultivo de los juveniles de corvina golfina durante el bioensayo.	23
5	Figura 5. Peso promedio final (g) \pm DE de los juveniles de corvina golfina (<i>C. othonopterus</i>) alimentados con cuatro tratamientos (HSPC0%, HSPC33%, HSPC66% y HSPC100%). Letras distintas marcan diferencia significativa ($P < 0.05$).	28
6	Figura 6. Peso promedio (g) de los juveniles de corvina golfina <i>C. othonopterus</i> alimentados con cuatro dietas experimentales durante el bioensayo.	29
7	Figura 7. Digestibilidad aparente (%) de los juveniles de corvina golfina (<i>C. othonopterus</i>) alimentados con cuatro tratamientos distintos. Letras diferentes marcan diferencia significativa ($P < 0.05$).	31

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Tabla 1. Composición proximal* y perfil de aminoácidos de la harina de pescado (HP), harina de subproducto de ave (HSA) y harina de calamar (HC).	19
2	Tabla 2. Porcentaje del ingrediente en la formulación de la dieta.	20
3	Tabla 3. Perfil de aminoácidos esenciales de las dietas y de la corvina dorada (g/100g).	20
4	Tabla 4. Composición Proximal de las dietas experimentales en base seca, media \pm DE.	22
5	Tabla 5. Desempeño de los juveniles de <i>C. thonopterus</i> alimentados con distintas dietas. Valores representan la media \pm DE. Letras distintas marcan diferencia significativa ($P < 0.05$).	30
6	Tabla 6. Valores de tasa de conversión alimenticia (TCA), tasa de eficiencia proteica (TEP) y valor productivo de la proteína (VPP) para los cuatro tratamientos experimentales. Los valores representan la media \pm D.E.	32
7	Tabla 7. Composición proximal (%) del musculo de <i>Cynoscion othonopterus</i> alimentados con cuatro dietas. Los valores representan la media \pm DE.	33

Capítulo 1

1.1 Introducción

La acuicultura es el sector de producción de alimento que más ha crecido en los últimos años, sin embargo ésta requiere de la utilización de ingredientes de alta calidad y alto costos en las dietas, lo que ha limitado la elaboración de dietas de bajo costo y dificulta la sustentabilidad de la industria (Bureau, 2006).

En la elaboración de los alimentos acuícolas, la proteína es el componente más importante y a su vez más costoso. En particular los peces carnívoros tienen un alto requerimiento de este nutriente por sus altas tasas de crecimiento y por ser el sustrato para muchos procesos bioquímicos (Wilson, 2002). El alimento en la producción animal es considerado el insumo de mayor costo, representando el 60% de los costos de producción (Knapp, 2008), por lo que cualquier estrategia más eficiente será aquella que reduzca el costo del alimento.

En el 2008 se produjeron a nivel mundial 29.2 millones de toneladas (MT) de alimentos acuícolas casi cuatro veces lo producido en 1995 (7.6 MT) indicando un aumento anual promedio de 11%. Se estima un crecimiento constante que demandará 71 MT para el 2020, donde la harina de pescado (HP) podría seguir siendo el principal ingrediente utilizado para la elaboración de alimentos. Sin embargo aunque la producción acuícola se incremente al mismo ritmo utilizando insumo a la HP, este será un fuerte limitante. Una de las razones es la reducción de las capturas pesqueras y el abastecimiento por parte de la industria de este insumo, lo que lleva al uso de otras fuentes alternativas eficientes y con menor costo.

Es por esto que en las últimas décadas se han realizado estudios por parte de distintas instituciones para reducir la dependencia por la HP en la acuicultura. Estos estudios han aportado un conocimiento respecto a los procesos digestivos y requerimientos nutricionales de las especies cultivadas, así como de la calidad nutrimental de los ingredientes alternos evaluados (FAO, 2012). De estos, los que se han evaluado destacan los subproductos de ave, considerados de gran potencial para su uso en la alimentación acuícola ya que poseen un alto contenido proteico, así como un buen perfil

de aminoácidos esenciales, ácidos grasos, vitaminas y minerales, Así mismo, hay una buena disponibilidad de estos productos en el mercado y permite la incorporación de grandes cantidades de energía digestible en la formulación de dietas (NRC, 2011).

Alguna de las limitantes que presenta el uso de fuentes alternas de proteína, se relacionan con la calidad de estos ingredientes en términos de digestibilidad, cantidad y biodisponibilidad de aminoácidos esenciales, baja calidad en su producción debida a un inconstante nivel de grasa en las dietas, lo que hace difícil su inclusión y que en ocasiones disminuya la ingesta tanto por exceso de energía o por una disminución en la palatabilidad. Una estrategia para intentar solucionar esta limitante es el uso de moléculas sintéticas o atrayentes como estimulantes alimenticios (Higgs, 1995). Uno de los problemas en la utilización de estos compuestos es su costo alto. Una alternativa viable es el uso de ingredientes crudos que contengan tanto estimulantes alimenticios como compuestos orgánicos que ayuden a elevar la calidad de los ingredientes (i.e., aminoácidos esenciales). Muchos de estos compuestos se encuentran naturalmente en los tejidos de organismos marinos como peces, camarones, calamares y mejillones (Abdul Kader *et al.*, 2010). La harina de calamar (HC) que por su alto contenido de proteína representa una excelente ingrediente para la elaboración de dietas acuícolas. Estudios evaluando la utilización de HC en la elaboración de dietas para organismos acuáticos, han reportado importantes características entre las que se encuentran un mejoramiento en la palatabilidad, incremento en la ganancia en peso, una mejor conversión alimenticia y una mayor supervivencia (Salgado, 2006). Adicionalmente la pesca del calamar excede las demandas del consumo humano convirtiéndolo en un producto con gran disponibilidad en el mercado (Garcia *et al.*, 2007).

Una de las causas en el incremento de demanda de alimentos acuícolas está ligada al incremento en la producción de nuevas especies. Entre las que se encuentra la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) especie endémica del Golfo de California con un alto valor pesquero. La corvina golfina representa una alternativa de cultivo para esta zona del país, en especial para los estados donde el cultivo de camarón ha presentado diversos problemas en su producción debido a las diversas enfermedades que sufren. Sin embargo, como cualquier otra especie con potencial para su cultivo es necesario establecer sus requerimientos nutricionales y lograr la rentabilidad de su cultivo

manteniendo los gastos asociados a la alimentación a bajo costo sin afectar negativamente los parámetros de producción. Por lo que en el presente trabajo se evaluó el efecto de la sustitución de la harina de pescado por harina de productos de origen animal en la dieta y su efecto en el crecimiento, la supervivencia, eficiencia y digestibilidad en juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*).

1.2 Antecedentes

1.2.1 Corvina golfina

La corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) es una especie endémica del golfo de California perteneciente a la familia Sciaenidae (Figura 1). Alcanza una talla máxima de 70cm y un peso de 2.4kg. Generalmente es de hábitos bentónicos, y son peces carnívoros que se alimentan de peces pequeños e invertebrados bentónicos (Chao, 1995). Como grupo las corvinas son consideradas euritermas y eurihalinas tolerando intervalos de temperatura desde 2 a 38°C y salinidades desde 5 a 42 g/L (Saavedra *et al.*, 2012).

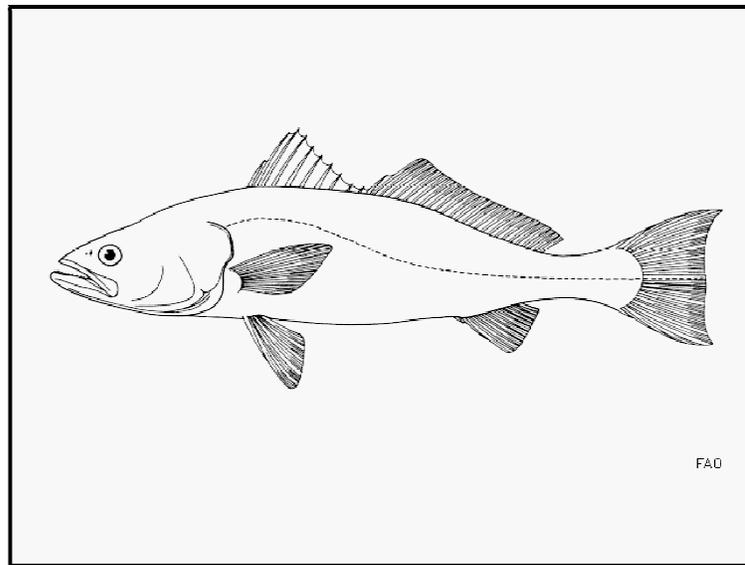


Figura 1. *Cynoscion othonopterus*. FAO, 2013. Recuperado de <http://www.fishbase.us/summary/Cynoscion-othonopterus.html>

La corvina golfina es una especie de alto valor pesquero por su volumen de captura y debido a que la época principal de su captura es la cuaresma representa un beneficio económico para los pescadores de la zona en un periodo muy corto de tiempo (D.O.F., 2012). La corvina golfina realiza migraciones anuales para su desove hacia el alto Golfo de California y el Delta del río Colorado, su periodo reproductivo se lleva a cabo en los meses de abril y mayo (Román, 2000). La pesca de la corvina golfina se realiza durante las agregaciones de desove utilizando diferentes artes de pesca como lo son las redes agalleras, redes de arrastre o líneas de mano (Marsh y Fox, 2007). La mayor parte de su pesca se destina a los mercados del Distrito Federal, Sonora y Baja California. En el año 2012 se capturaron 2,669 toneladas de producto eviscerado alcanzando un valor

monetario cercano a los 50 millones de pesos (D.O.F., 2012). El precio por kilogramo de corvina golfina en el año 2012 se estableció en 18.86 pesos (D.O.F., 2012). Adicionalmente también se comercializa la vejiga natatoria de la corvina golfina la cual se prepara para venderse como sopa de buche usualmente en establecimientos de comida China. El precio de este subproducto fluctúa entre 30 a 50 pesos por kilo y se vende por separado (Paredes *et al.*, 2010).

En la actualidad la corvina golfina representa una alternativa de cultivo para la zona del Golfo de California, en especial para los estados donde el cultivo de camarón ha presentado diversos problemas en su producción debido a las diversas enfermedades. Sin embargo para el éxito de cultivo de cualquier especie es necesario conocer los requerimientos nutricionales de la especie en interés, para la elaboración de sus dietas de crecimiento y engorde. Los requerimientos nutricionales para la formulación de las dietas de la corvina golfina se han basado en estudios realizados para la determinación de requerimientos nutricionales de una especie muy similar de la misma familia, la corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*). En un estudio de Serrano y colaboradores (1992) encontraron que los valores más altos de crecimiento y eficiencia alimenticia para la corvina dorada fueron observados alimentando con el uso de dietas que contenían 45% de proteína y 10% de lípidos.

1.2.2 Proteínas

Las proteínas y sus componentes esenciales, los aminoácidos, son moléculas muy importantes por el papel que fungen en la estructura y metabolismo de los organismos. Los peces y crustáceos no poseen la capacidad de sintetizar todos los aminoácidos que requieren para la formación de sus proteínas, por lo tanto éstos se deben incluir en sus dietas (Webster, 2002).

Las proteínas son compuestos orgánicos conformados por moléculas de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, aunque algunas también contienen azufre, fósforo y hierro. Las proteínas son polímeros de aminoácidos y se conforman por cadenas de hasta 20 aminoácidos distintos unidos por un enlace peptídico (N.R.C., 2011). Existen 10 aminoácidos que no pueden ser sintetizados por los vertebrados (aminoácidos esenciales), entre ellos los peces. Los aminoácidos esenciales son: la arginina, la

histidina, la isoleucina, la leucina, la lisina, la metionina, la fenilalanina, la treonina, el triptófano y la valina. Cuando alguno de estos aminoácidos es deficiente en la dieta se le conoce como aminoácido limitante. Para llevar a cabo la síntesis de las proteínas todos los aminoácidos necesarios para formar la proteína deben estar disponibles en la célula (Webster, 2002).

Las proteínas se pueden dividir en simples y conjugadas. Las simples consisten en aminoácidos unidos por un enlace peptídico como lo son: albuminoides, albúmina, globulinas, hormonas y proteínas de la sangre, proteínas contráctiles, tales como actina-miosina, y queratinas. Las proteínas conjugadas son proteínas unidas a sustancias no proteicas como por ejemplo: cromoproteínas (unidas al elemento cromo), lipoproteínas (conformadas por proteínas y lípidos), metaloproteínas (unidas a un ion metálico), nucleoproteínas (asociada a un ácido nucleico) y fosfoproteínas (unida a un ácido fosfórico) (Webster, 2002).

En los peces las proteínas llegan a conformar hasta un 75% de su cuerpo. Los peces consumen las proteínas para obtener los aminoácidos esenciales. Estos son digeridos y absorbidos por el intestino y son distribuidos por la sangre hacia los órganos y tejidos. Así los aminoácidos son utilizados para la síntesis de nuevas proteínas y otros componentes como las hormonas, los neurotransmisores y las enzimas. Los peces tienen un requerimiento elevado de proteína para su crecimiento, la reproducción y/o el mantenimiento. Niveles bajos de proteína en la dieta ocasionan una reducción en el crecimiento, pérdida de peso o un mal funcionamiento de tejidos vitales. Es importante balancear el nivel de proteína en la dieta con la energía no-proteica (i, e, lípidos y carbohidratos), ya que si se formulan las dietas con altos niveles de proteína asociados a niveles bajos de energía no-proteica, una porción se usará para síntesis de proteína y la otra porción se convertirá en energía (Wilson, 2002). Puesto que la proteína es el nutriente más caro en dietas para organismos acuáticos, es necesario evitar su utilización como fuente de energía. La calidad de la proteína como un nutriente está en función de su digestibilidad y el perfil de aminoácidos esenciales (Roberts, 2002).

El requerimiento de proteína en los peces se ve afectado por distintas factores intrínsecos y extrínsecos. La talla del pez es uno, en donde los peces de tamaño pequeños por lo general de estadios tempranos requieren un mayor porcentaje de

proteína que los de mayor tamaño. La calidad de la proteína es otro factor ya que ésta dependerá de su perfil de aminoácidos y su digestibilidad. Otro factor es la tasa de consumo de alimento de los organismo acuáticos ya que ha menor consumo de alimento menor es la cantidad de proteína consumida (Webster, 2002).

En los últimos años se han realizado numerosos estudios para determinar el requerimiento proteico de distintas especies de interés comercial para la acuicultura. Una de las metodologías comúnmente utilizada evalúa el efecto en el crecimiento, supervivencia y eficiencia alimenticia cuando se alimenta a los organismos con distintos niveles de proteína en la dieta (N.R.C., 2011). En las especies de la familia Sciaenidae se han realizado diversos estudios con este enfoque. Como por ejemplo los trabajos de Daniels y colaboradores (1986) quienes determinaron el requerimiento de proteína en juveniles de corvina dorada (*S. ocellatus*) cultivadas en diferentes temperaturas (22-26°C y 26-33°C). En este trabajo el mejor crecimiento se registró con niveles de proteína del 35% y 44% de la dieta, respectivamente. En otro estudio para determinar el requerimiento metabólico basal (el requerimiento mínimo para mantener las funciones vitales) de proteína para la corvina dorada McGoogan *et al.* (1998) encontraron que se requieren para una ganancia máxima de peso, entre 20 y 25 g de proteína digestible (DP) por kg de peso corporal al día. En el estudio con otra especie de corvina, la totoaba (*Totoaba mcdonaldii*) Rueda-López *et al.* (2011) alimentaron a los peces con tres niveles de proteína cruda (43, 48 y 52%) y 2 niveles de lípidos (8.5 y 18%) y encontraron un mejor crecimiento en juveniles cuando se alimentaron con una dieta de 52% de proteína cruda y 8.5 % de lípidos.

1.2.3 Sustitución de la harina de pescado

A nivel mundial la harina de pescado (HP) se elabora en su mayoría a partir de peces pelágicos como la anchoveta, arenque y sardinas. La producción global anual de HP es de aproximadamente 5 millones de toneladas métricas (TM) de los cuales se producen a partir de aproximadamente 22 millones de TM de materia prima (Jackson, 2012). En 1995 el 29.5% de las capturas mundiales de peces se destinaron para la elaboración de HP registrando un total de 27.2 millones de TM de materia prima. En el año 2009 se destinó el 20.2% para un total de 17.9 millones de TM.

La acuicultura es el principal consumidor de HP, y ésta es utilizada para la elaboración de alimentos acuícolas, principalmente carnívoros y crustáceos, donde según los registros de la FAO, en el 2008, el 46.1% del total de la producción acuícola mundial fue dependiente de alimentos formulados. Los niveles de inclusión de HP en los alimentos acuícolas fluctúan de 2 a 65% para peces y crustáceos aunque en los últimos 13 años (1995-2008) estos niveles han disminuido. La FAO (2012) pronostica para los próximos 10 años una disminución en los niveles de inclusión de HP en los alimentos para peces carnívoros del 10 al 22% y un 2 al 5% para peces omnívoros (FAO, 2012).

Alguna de las características que hacen a la HP sea el principal ingrediente para la formulación de alimentos acuícolas para peces carnívoros es su alta proporción de aminoácidos esenciales biodisponibles, tales como la lisina, la leucina, la arginina, la valina y la metionina. Además de ser rica en ácidos grasos polinsaturados de la familia linolénica (n-3) con un contenido de ácidos grasos de cadena larga C20 y C22 y una buena fuente de macro y microminerales como: el selenio, el calcio, el fósforo, el magnesio, el potasio, el zinc, el yodo, el hierro, el cobre, el manganeso, el cobalto, el selenio y el flúor, y fuente de vitaminas como: B1, B2, B6 y B12, (Garcia *et al.*, 2007). Otra característica importante es el contenido de factores de crecimiento que no se han identificado todavía (Ramsey, 1993).

Las perspectivas para aumentar la producción de HP son limitadas debido al estricto control de las pesquerías y el aumento de cierta porción de la materia prima para producir HP dirigida ahora al consumo humano. Debido a la falta de producción de ingredientes marinos alternativos se piensa que el crecimiento de la acuicultura es limitado. Desde el 2005, el uso de HP para la elaboración de alimentos acuícolas se ha incrementado un 7% anual. Sin embargo la producción de HP se ha mantenido estable con 3.2 millones de TM por año. Debido a éstas tendencias actuales la sustentabilidad de la acuicultura pudiera estar ligada al suministro de fuentes proteicas alternas de origen animal terrestre o de plantas (Jackson, 2012).

Como se mencionó anteriormente, la acuicultura se mantiene como el sector de mayor consumo de HP para la elaboración de alimentos, su demanda ha disminuido desde el 2006. En el 2005 la acuicultura consumió 4.23 millones de TM de HP (i.e., un total de

18.7% usados en alimentos acuícolas) en el 2008 disminuyó a 3.72% MT (12.8% usados en alimentos acuícolas). Se estima que para el año 2020 el uso de la HP para la elaboración de alimentos acuícolas será de tan solo 3.5 millones de TM (4.9% usados en alimentos) (Figura. 2). Algunas de las razones de esta reducción de consumo de HP son la disminución de las capturas por una mayor regulación en la pesca y el aumento en el uso de ingredientes de menor costo (FAO, 2012).

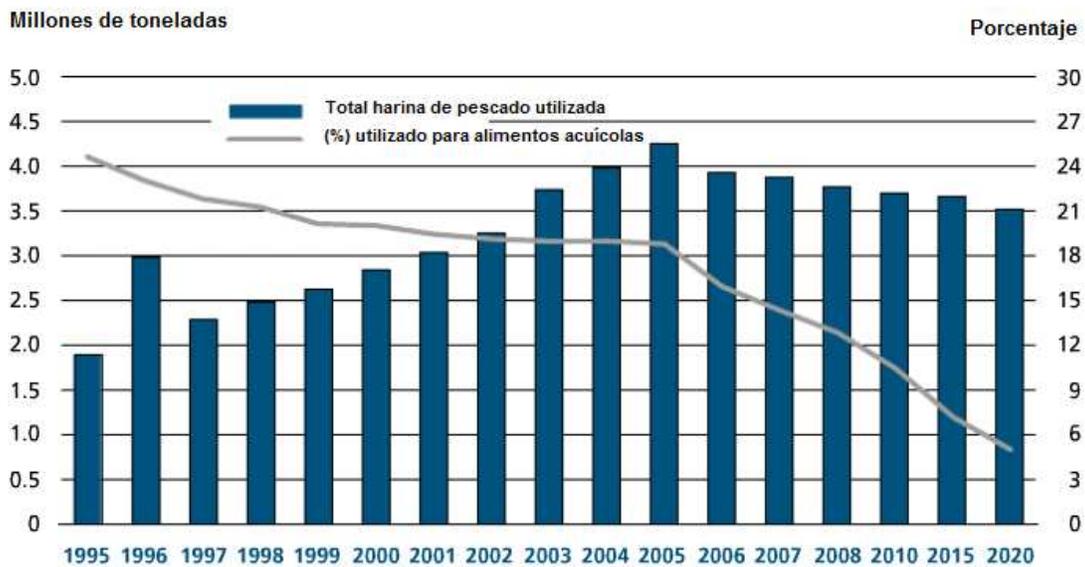


Figura 2. Utilización de harina de pescado actual y pronosticada en la acuicultura y porcentaje de harina de pescado utilizados para la elaboración de alimentos acuícolas. Recuperado de FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2012. p. 177.

En la última década la producción acuícola aumentó el 97% (15 millones de TM a 30 millones de TM) y el consumo de ingredientes de origen marino solo un 23%. Este crecimiento menor se debe a la mayor eficiencia nutrimental de los ingredientes usados en la formulación de dietas balanceadas además del aumento en el uso de ingredientes de origen animal terrestre tanto animal como vegetal. (Andrew *et al.*, 2010).

En los últimos años la industria de alimentos acuícolas y las instituciones dedicadas a la investigación, han desarrollado numerosos estudios enfocados a reducir la dependencia del sector por la HP. Estos estudios se basan en el conocimiento de los procesos de digestivos y los requerimientos nutricionales de las especies cultivadas y además de la utilización de otras fuentes proteicas (FAO, 2012). Incluso si el problema del suministro

de HP estuviera resuelto aún permanece el concepto contradictorio de alimentar peces con peces (Sanz *et al.*, 2000).

Los esfuerzos para sustituir la HP comienzan en los 70's a causa de una crisis en la producción de HP, por lo que se vio la necesidad de utilizar otras fuentes proteicas. Algunas de las desventajas de los ingredientes alternos son: falta de aminoácidos esenciales, la baja palatabilidad, la presencia de contaminantes y los factores antinutricionales, la poca disponibilidad de algunos ingredientes, el bajo porcentaje de proteína, el alto contenido de carbohidratos y la baja digestibilidad (Sanz *et al.*, 2000).

En los últimos años diversos estudios para la sustitución de la HP en dietas para peces carnívoros han tenido resultados satisfactorios con distintas especies evaluando ingredientes de varias fuentes proteicas. McGoogan y Gatlin (1997) en juveniles de corvina dorada sustituyeron la HP con harina de soya reportaron un crecimiento similar entre las dietas con 90% de la proteína aportada por la harina de soya y la de 100% HP. Carter y Hauler (2000) utilizaron distintos ingredientes de origen vegetal (soya, hojas de altramuz y guisantes) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) sustituyendo la HP en 25 y 33%, en donde reportaron no haber encontrado diferencias significativas en la ganancia en peso entre la dieta control y las dietas de proteína de origen vegetal.

Por otro lado, se han utilizado ingredientes provenientes de subproductos de origen animal. Rawles *et al.* (2006) en un estudio realizado con el híbrido de lobina rayada (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂) sustituyeron HP con harina de subproducto de ave (HSA) en 35, 70 y 100% y no encontraron diferencias significativas en la ganancia en peso entre los peces alimentando con las distintas dietas. Recientemente Kader *et al.* (2012) realizaron un estudio con pargo rojo (*Pagrus major*) donde sustituyeron la HP con harina de soya procesada (i.e., sin cascara) en 70, 80, 90 y 100%, reportando un crecimiento mayor en los peces alimentados con dietas que contenían 70 y 80% de la proteína de harina de soya.

1.2.4 Utilización de harina de subproducto de ave

En la acuicultura la alimentación representa el costo de producción más elevado, por lo que un objetivo importante es reducir estos costos por medio de la elaboración de

dietas más económicas (EL-Haroun *et al.*, 2009). Los altos costos de los alimentos han obligado la utilización de otras fuentes proteicas más baratas y eficientes nutricionalmente hablando (Robinson, 1990). Estas fuentes deben de tener una gran biodisponibilidad, bajo costo y alto valor nutritivo (D'Abramo y Lovell, 1991).

Los alimentos para peces carnívoros por lo general contienen hasta un 60% de HP. Debido a su alta demanda y a la disminución en las capturas de especies marinas que sirven de materia prima, la HP ha incrementado su costo considerablemente. Para reducir la dependencia de la HP en la alimentación y aumentar la sustentabilidad de la acuicultura se deben usar proteínas de ingredientes económicos (Cho *et al.*, 1974).

El 33% de los productos que son de origen animal (i.e., carne, leche, huevos) no son utilizados para el consumo humano. Estos son reciclados y utilizados en la fabricación de otros subproductos como puede ser, ingredientes en dietas de ganado, aves y peces. Un subproducto es un producto secundario obtenido durante la fabricación de un producto. El proceso de reciclado es tanto físico como químico e involucra típicamente la aplicación de la temperatura, la extracción de humedad y la separación de grasas. Por lo general se utilizan temperaturas entre 115° a 145°C y con un tiempo de cocción de 40 a 90 minutos. La temperatura es un factor es un punto crítico para determinar la calidad del ingrediente producido. La cocción inactiva las bacterias, los virus, los protozoarios y los parásitos ayudando a mantener la inocuidad del subproducto pero también puede disminuir la biodisponibilidad de algunos nutrientes (Meeker y Hamilton, 2006).

Desde hace algunas décadas se han utilizado los productos de origen animal terrestre para la elaboración de dietas acuícolas. El uso de proteínas de productos reciclados de origen animal había sido limitado en décadas anteriores, por la baja digestibilidad y variación en su calidad (Cho y Slinger, 1979). Los ingredientes que se producen hoy en día son de mucha mejor calidad que los de décadas atrás, han aumentando su digestibilidad y su palatabilidad. Se han realizado numerosos estudios sobre el valor nutritivo de las proteínas recicladas de origen animal indicando que son ingredientes rentables y que contienen gran disponibilidad de aminoácidos (i.e., aminoácidos sulfurados, lisina, histidina y arginina) ácidos grasos y otros nutrientes, además de tener alta palatabilidad para muchas especies (Bureau, 2006).

La utilización de los subproductos de ave además de bajar los costos en la elaboración de alimentos acuícolas (Kearns, 1990), contribuye en la reducción de desechos orgánicos disminuyendo la contaminación por este tipo de subproductos (Woodrooffe, 1993).

Los subproductos de ave se producen a partir de pedazos molidos de cuello, huevos sin desarrollarse e intestinos. Como ingredientes con calidad nutrimental aportan tanto aminoácidos como ácidos grasos esenciales y vitaminas (Meeker y Hamilton, 2006). La harina de subproductos de ave (HSA) no es apropiado para el consumo humano ya que es procesada con antibióticos, sin embargo poseen un alto valor nutricional convirtiéndola en un producto ideal para la elaboración de dietas acuícolas (New y Csavas, 1995). La HSA dependiendo de la materia prima y el proceso industrial se clasifica como: a) grado alimenticio (feed grade), b) estándar (standard) y c) grado alimento para mascotas (pet food grade). Algunas de las características nutricionales de la HSA de importancia para la elaboración de alimentos acuícolas son su buena disponibilidad en el mercado y alto contenido de proteína cruda, además de incorporar una gran cantidad de energía en la formulación de los alimentos (McCasland, 1965). Otro aspecto a destacar como ingrediente en alimentos acuícolas, es que la HSA tiene una mayor palatabilidad que los ingredientes proteicos vegetales (Bureau, 1996; Higgs *et al.* 1979). Según Steffens (1994) en la elaboración de los alimentos acuícolas se puede sustituir la HP por HSA siempre y cuando se balanceen e incorporen algunos de los aminoácidos limitantes en la HSA aparte de la incorporación de aceite de pescado para agregar el aporte de los ácidos grasos esenciales poli-insaturados de la serie n-3 puesto que no se encuentran presentes en altas cantidades de los ingredientes derivados de harinas animales o plantas terrestres (Mendoza *et al.*, 2000). Se han realizado varios estudios con la finalidad de sustituir la HP en dietas para peces marinos, por ejemplo, Shapawi *et al.* (2007) trabajando con el mero jorobado (*Cromileptes altivelis*) remplazaron la HP en la dietas por harina de subproducto de ave feed grade en distintos niveles de inclusión (50, 75 y 100%). A su vez remplazaron la HP por harina de subproducto de ave tipo pet food grade con dos niveles altos de inclusión (75 y 100%). En su estudio no encontraron diferencias significativas en cuanto al crecimiento, la supervivencias y la eficiencia alimenticia en los peces con las dietas experimentales con respecto a la dieta control (100% HP) a excepción de los

peces alimentados con la dieta que tenía un nivel de inclusión de 100% de harina de subproducto de ave tipo feed grade. Así mismo se han realizado estudios en crustáceos, por ejemplo el trabajo llevado a cabo por Chi *et al.* (2009) con juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el cual evaluaron 7 niveles de nivel de reemplazo de la HP (0, 30, 40, 50, 60, 70 y 100%) por HSA. Al final del experimento reportaron que es posible reemplazar la HP hasta un 70% sin verse afectados negativamente el crecimiento, la supervivencia, la tasa de conversión alimenticia, la tasa de eficiencia proteica y la composición proximal en juveniles de camarón (*L. vannamei*).

1.2.5 Utilización de harina de calamar

Uno de los efectos negativos más importantes al sustituir la HP en dietas para organismos acuáticos, es la pérdida de la palatabilidad del alimento, en particular cuando se usan fuentes proteicas de origen vegetal, lo que ocasiona una baja tasa de consumo de las dietas por los organismos cultivados (Kubitza *et al.*, 1997). Esto ha limitado en gran medida el uso de harinas de origen vegetal en las dietas para peces marinos, por lo que muchos estudios se han enfocado a encontrar alternativas para disminuir este problema.

Existen muchos compuestos que pueden estimular o inhibir el comportamiento alimenticio en los peces. Los estimulantes en peces pueden ser moléculas pequeñas como aminoácidos entre los que se encuentra la taurina, la glicina, la arginina, el ácido glutámico y la alanina entre otros (Grey *et al.*, 2009). De tal forma que para mejorar la palatabilidad y el consumo de alimento, a menudo se adicionan aminoácidos cristalinos en las dietas. Sin embargo el uso de ingredientes crudos (i.e., materia que no ha sido elaborada por el ser humano) que contengan estos aminoácidos es una alternativa más práctica y económica. Muchos de estos compuestos que pueden mejorar la palatabilidad del alimento se encuentran naturalmente en los tejidos de los organismos marinos como los peces, los camarones, los calamares y los mejillones (Abdul Kader *et al.*, 2010).

La harina de calamar (HC) es una excelente fuente de proteínas utilizada como insumo para la elaboración de dietas en la acuicultura. Entre el 60 y 80% del peso total del

calamar es comestible y se usa frecuentemente para consumo humano, mientras que el resto es utilizado para la elaboración de harina. Los principales países productores de la HC son Indonesia, India y Perú. Los estándares de calidad de la HC son: un contenido no menor de 45% de proteína, lípidos totales menor que 3% y no más de 11% agua (Garcia *et al.*, 2007). La calidad de la HC está en función del proceso de producción, la frescura del producto y la cantidad de lípidos (Anderson *et al.*, 1993). La HC entre las fuentes de grasa contiene alrededor 21-33% de ácidos grasos saturados, 8-12% de ácidos grasos monoinsaturados y 57-70% de ácidos grasos polinsaturados (Sikorsky y Kolodziejska, 1986). En comparación con otros ingredientes naturales la HC posee una alta concentración de colesterol, de fosfolípidos y de ácidos grasos 20:5n-3 y 22:6n-3. Así mismo es una buena fuente de vitamina C, tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido fólico, vitamina B12 y ácido pantoténico. Los principales minerales presentes en la HC son: el potasio, el fósforo, el sodio, el selenio, el calcio, el magnesio y el manganeso.

La HC por su alto contenido de proteína representa una excelente alternativa para la elaboración de dietas acuícolas, además la pesca del calamar excede las demandas del consumo humano convirtiéndolo en un producto con gran disponibilidad (Garcia *et al.*, 2007). El uso de la HC en las dietas para organismos a resultado en un incremento en la biomasa, mejora de la conversión alimenticia y la supervivencia (Salgado, 2006). Esta harina ha sido utilizada para la elaboración de dietas con distintas finalidades como lo son: atrayente en la dieta (Montemayor *et al.*, 1998), como fuente alterna de proteína (Castell, 1986) y estimulante de crecimiento (Cruz Suárez y Guillaume. 1987).

Se han realizado diversos estudios evaluando la palatabilidad de las dietas usando extractos de tejido de calamar. Por ejemplo Toften *et al.* (2003) realizaron un estudio con el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) alimentando juveniles con dietas con y sin calamar, reportando un aumento en la tasa de consumo de alimento y de crecimiento de los juveniles alimentados con las dietas con algún contenido de calamar. Demostrando que la incorporación de calamar en dietas para salmón resultó ser un estimulante en la ingestión de alimento (Kofuji *et al.*, 2006). En un estudio similar Morimoto *et al.* (2006) llevaron a cabo un experimento en el que adicionaron a las dietas para jurel cola amarilla (*Seriola quinqueradiata*) estimulantes del comportamiento alimenticio

elaborados a base de krill y calamar, reportando una mejora en la tasa de ingestión y crecimiento de los jureles alimentados con las dietas que contenían estimulantes en comparación con la dieta control (sin estimulantes).

1.2.6 Digestibilidad

La calidad de los alimentos acuícolas no solo está dada por su composición química (i.e., porcentaje de proteína y perfil de aminoácidos), sino también por la cantidad de los nutrientes que los organismos pueden digerir, absorber y utilizar para sus procesos metabólicos y crecer adecuadamente. La digestibilidad se define como la biodisponibilidad de los nutrientes en los alimentos. La digestibilidad nos indica la cantidad de un ingrediente en el alimento que es digerido y absorbido por el organismo y no es excretado en las heces. La calidad de un ingrediente o nutriente en dietas para organismos puede evaluarse por medio de la digestibilidad (N.R.C. 1993). Por lo anterior, es de suma importancia conocer el coeficiente de digestibilidad de los nutrientes en los alimentos para lograr maximizar su utilización en las dietas y a su vez disminuir los desperdicios producidos por los organismos. Por ejemplo al maximizar la digestibilidad de los nutrientes en las dietas se reducirán las excreciones de fósforo y nitrógeno, evitando así una posible eutrofización de las aguas de cultivo (Gaylord y Gatlin, 1996).

Existen varios métodos para evaluar la digestibilidad de los nutrientes, ingredientes o dietas compuestas. En el método directo, se debe cuantificar todo el alimento consumido por el organismo y todas las heces producidas y por diferencia estimar el alimento digerido y absorbido. Sin embargo, es imposible estimar correctamente todo el alimento consumido en organismos acuáticos así como todas las heces producidas por lo que se han desarrollado metodologías alternas para sobreponer estas complicaciones. En el método indirecto, se utiliza un marcador inerte no digestible que puede estar presente naturalmente en los ingredientes por lo general en concentraciones de 0.5 a 1%. Para que el marcador inerte sea adecuado éste debe ser indigestible, no tóxico, y no afectar la digestión, además de tener un paso por el tracto digestivo similar a los ingredientes (De Silva y Anderson, 1995). La digestibilidad del nutriente se estima cuantificando los niveles del marcador en la dieta y el marcador en

las heces y su relación con los nutrientes en la dieta y en las heces y no es necesario cuantificar todo el alimento ni todas las heces producidas. Para lograr obtener estimaciones confiables de digestibilidad en organismos acuáticos es importante recolectar las heces lo más pronto posible para evitar problemas asociados a la lixiviación de nutrientes. Algunos investigadores han evaluado diversos métodos de obtención de heces para intentar disminuir la lixiviación, como por ejemplo por succión anal (Windell *et al.*, 1978b) o por presión abdominal (Nose, 1960). Sin embargo, se corre riesgo de obtener heces que aún no han sido completamente absorbidas y subestimar la digestibilidad del nutriente, por lo que es importante tener esto en consideración. Cho y Slinger (1979) establecieron que si las heces se colectan del tanque en un periodo de tiempo corto después de su expulsión se pueden obtener datos relativamente confiables de digestibilidad. Los datos de digestibilidad obtenidos utilizando el método indirecto han sido valorados por varios autores y se considera más aceptable hasta la fecha (Takeuchi *et al.*, 1979; Cho y Kaushik, 1985; Wilson y Poe, 1985; Mangalik, 1986; Satoh *et al.*, 1992).

Por último ya sea que se utilice el método directo o indirecto para estimar la digestibilidad, los datos obtenidos no representan la digestibilidad real, sino la digestibilidad aparente por el hecho de que puede existir un pequeño aporte endógeno (proveniente del organismo) del nutriente de interés. Por ejemplo, Nose (1967) encontró un 3.1% de nitrógeno en las heces de fuente endógena en la trucha arcoíris. Sin embargo, si el aporte del nutriente endógeno es relativamente pequeño con respecto al nutriente en la dieta, como es el caso de las proteínas, es adecuado reportar los datos como digestibilidad aparente.

La digestibilidad puede ser afectada por distintos factores exógenos como condiciones ambientales, salud del organismo y prácticas de alimentación (Sullivan y Reigh, 1995). Según Dabrowski *et al.* (1986) la salinidad no influyó en la digestibilidad de la proteína en la trucha arcoíris. Por último algunos autores reportan un descenso en la digestibilidad con el incremento de la cantidad del alimento ofrecido (Elliot, 1976; Windell *et al.*, 1978a).

Capítulo 2

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la sustitución de la harina de pescado, por harina de productos de origen animal en dietas para juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*).

2.1.2 Objetivos específicos

Evaluar el crecimiento y la supervivencia de juveniles de corvina golfina alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de la harina de pescado por la harina experimental.

Evaluar la utilización del alimento (la tasa de conversión alimenticia, la tasa de eficiencia proteica y el valor productivo de la proteína) en juveniles de corvina golfina alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de la harina de pescado con una mezcla de harinas (subproducto de ave y calamar).

Evaluar la digestibilidad de las dietas en juveniles de corvina golfina alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de la harina de pescado con una mezcla de harinas (subproducto de ave y calamar).

2.2 Hipótesis

La sustitución del 100% de harina de pescado por harina de productos de origen animal (i.e, harina de subproducto de ave (75%) y harina de calamar (25%)), en la dieta no afecta negativamente el crecimiento, la supervivencia y la utilización del alimento en juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*).

Capítulo 3

3.1 Materiales y métodos

3.1.1 Formulación de dietas

Se formularon cuatro dietas isoproteicas (50%) e isolipídicas (9%) intentando satisfacer los requerimientos de la corvina golfina, con base en los requerimientos determinados de aminoácidos de los juveniles de corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*) (McGoogan y Gatlin, 1998), y la información reportada del perfil de aminoácidos de la harina de pescado (*sardinops sagax sagax*), harina de subproducto de ave (pet food grade) y de la harina de calamar (*Dosidicus gigas*) (Tabla 1). El perfil de aminoácidos se tomó de la información otorgada por la compañía Protmagro®.

Tabla 1. Composición proximal* y perfil de aminoácidos de la harina de pescado (HP), harina de subproducto de ave (HSA) y harina de calamar (HC).

	Ingrediente		
	HP (Sardina)	HSA (Pet food grade)	HC
Composición Proximal (%)			
Proteína	60	65	73-75
Lípidos	10-12	12	3-5
Ceniza	16-19	14	5-6
Fibra	<1.0	3	-
Aminoácido (g/100g)			
Lisisna	3.5	3.7	4.4
Metionina	1.8	1.6	1.8
Treonina	2.8	2.6	2.6
Arginina	2.6	3	4.7
Histidina	1.4	1.1	1.4
Valina	2.4	2.2	2.8
Isoleusina	2.1	2.1	2.6
Leusina	4.0	4.3	4.8
Fenilalanina	1.9	1.9	2.4
Triptofano	-	-	-

*Información obtenida de Protmagro®, Guadalajara, Jalisco. Recuperado de <http://www.protmagro.com/>.

Se sustituyó la harina de pescado (HP) de forma gradual (33, 66 y 100%) por harina experimental conformada con harina de subproducto de ave (HSA) en un 75% y harina de calamar (HC) en un 25% (Tabla 2) y se formuló tratando de satisfacer el requerimiento de aminoácidos esenciales de la corvina golfina con base en los de la corvina dorada (*S. ocellatus*).

Tabla 2. Porcentaje del ingrediente en la formulación de la dieta.

INGREDIENTE	Tratamiento			
	HSPC0%	HSPC33%	HSPC66%	HSPC100%
Harina de pescado	76.8	50.7	26.1	0
Harina subproducto ave	0	18.3	35.4	53.7
Harina calamar	0	6.1	11.8	17.9
Aceite de pescado	2	1.5	1.5	1
Almidón gelatinizado	13.7	13.9	14.6	15.8
Celulosa	4	6	7	8
Rovimix*	2	2	2	2
Vitamina C	0.5	0.5	0.5	0.5
Tocoferol + Benzoato de sodio	1	1	1	1
Total	100	100	100	100

* Mezcla de vitaminas y minerales para peces carnívoros marinos.

En la tabla 3 se presenta los estimados del perfil de aminoácidos esenciales de cada dieta y del requerimiento de la corvina dorada.

Tabla 3. Perfil de aminoácidos esenciales de las dietas y de la corvina dorada (g/100g).

Aminoácido	Tratamiento				<i>S. ocellatus</i>
	HSPC0%	HSPC33%	HSPC66%	HSPC100%	
Lisina	2.7	2.7	2.7	2.8	2.0
Metionina	1.4	1.3	1.3	1.2	1.0
Treonina	2.2	2.1	2.0	1.9	1.0
Arginina	2.0	2.1	2.3	2.4	1.3
Histidina	1.1	1.0	0.9	0.8	0.6
Valina	1.8	1.8	1.7	1.7	1.1
Isoleusina	1.6	1.6	1.6	1.6	1.0
Leusina	3.1	3.1	3.1	3.2	1.6
Fenilalanina	1.5	1.5	1.5	1.4	1.6
Triptofano					0.6

3.1.2 Elaboración de las dietas.

El proceso de elaboración de las dietas (Figura 3) se llevó a cabo en el laboratorio de fabricación de alimentos del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California. Para la mezcla de los ingredientes se utilizó una trituradora comercial con capacidad para 20 kilos (Robot-Coupe, USA, modelo R10). Las harinas, rovimix (mezcla de vitaminas y minerales), stay C (vitamina C), benzoato de sodio y celulosa se mezclaron por un tiempo de 5 minutos. Posteriormente se agregó a la trituradora el aceite de pescado junto con el tocoferol y se mezcló durante 2 minutos. Finalmente se agregó a la trituradora el almidón gelatinizado previamente calentado en agua (aproximadamente 300 ml de agua por cada kilo) durante 10 minutos en un horno de microondas. Se mezcló durante 2 minutos hasta la homogenización de la masa y durante este proceso se fue agregando 1L de agua caliente para conseguir la consistencia deseada de la masa.

Terminando el proceso de mezcla de los ingredientes, se utilizó un molino de carne (Modelo M32-5, Tor.Rey, México) acoplado un dado con orificios de 1/16' de diámetro. Los pellets fueron triturados parcialmente a mano y secados por 48 horas a 65°C en un horno de aire forzado. Por último se empacaron las dietas en bolsas de plástico se sellaron y se almacenaron a -20°C hasta su uso.

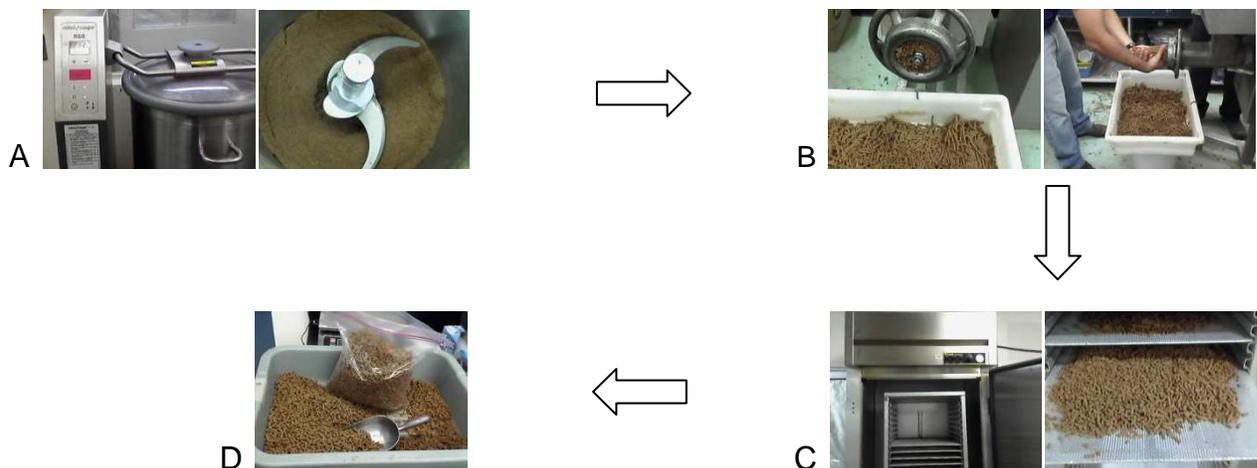


Figura 3. Proceso de elaboración de las dietas. A: mezcla de los ingredientes, B: peletización, C: secado y D: almacenamiento.

Ya elaboradas las dietas se realizó el análisis proximal (Tabla 4) utilizando los siguientes protocolos; la cuantificación de proteína por el método micro-Kjeldahl, el contenido de lípidos totales por la metodología descrita por Folch *et al.* (1957), las cenizas se determinaron mediante la incineración por mufla a 550°C durante 8 horas y el extracto libre de nitrógeno (ELN) fue estimado por diferencia, restando el porcentaje de proteína +, lípidos + cenizas de un 100% (A.O.A.C., 1990).

Tabla 4. Composición Proximal (%) de las dietas experimentales en base seca, media \pm DE.

	Tratamientos			
	HSPC0%	HSPC33%	HSPC66%	HSPC100%
Proteína	49.6 \pm 1.0	50.2 \pm 1.0	49.0 \pm 1.7	49.6 \pm 2.0
Lípidos	8.3 \pm 0.3	8.3 \pm 0.2	8.8 \pm 0.2	8.7 \pm 0.2
Ceniza	17.5 \pm 0.6	12.8 \pm 0.6	8.4 \pm 0.4	7.0 \pm 0.3
ELN*	29.3	32.6	33.8	34.7

*Extracto Libre de Nitrógeno.

3.1.3 Condiciones de cultivo

3.1.3.1 Obtención de los organismos

En el presente bioensayo se utilizaron juveniles de corvina golfina donados por el Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES) Bahía Kino Sonora. Los huevos de corvina golfina se obtuvieron de reproductores maduros colectados por método de pesca artesanal. Los reproductores fueron desovados en cubetas mediante presión abdominal para la obtención de los gametos y posteriormente realizar la fertilización *in vitro*. La eclosión de los huevos fertilizados se llevó a cabo bajo condiciones controladas de temperatura, salinidad, oxígeno y fotoperíodo. Las larvas se cultivaron bajo el protocolo de cultivo de peces marinos del CREMES. Los juveniles se transportaron vía aérea de Hermosillo hacia Tijuana, después vía terrestre al Laboratorio de Cultivo de Peces Marinos del Departamento de Acuicultura del CICESE en Ensenada.

3.1.3.2 Sistema experimental

El bioensayo se realizó en un sistema de recirculación de agua de mar compuesto por un biofiltro de medio granular (PolyGeysers Modelo DF/#, USA), un filtro de UV (Modelo QL-25, Pentairaquatics, USA), una bomba de agua (Wave II 2-speed pump $\frac{3}{4}$ hp, USA). El sistema experimental consistió de 12 tanques de color azul-claro de fibra de vidrio de fondo plano (Figura 4) con una capacidad de 250 litros (3 tanques por dieta experimental). El oxígeno disuelto en los tanques se mantuvo en 6-7 mg/L, la temperatura aproximadamente a 24 ± 1 °C mantenida por una bomba de calor (modelo DSHP-6, Delta Star USA) y la salinidad se mantuvo a 35 ± 0.5 ups. El amonio (NH_4), amoniaco (NH_3) y Nitritos (NO_2) se midió dos veces por semana (Api Aquarium Pharmaceutic Kit) intentando mantener en valores aceptables para la especie.

El periodo de aclimatación de los organismos al sistema experimental fue de 45 días. En dicho periodo los organismos fueron alimentados con una dieta comercial japonesa marca Otohime EP2 (48% proteína cruda, 14.5% lípidos). Al inicio del experimento se realizó la transición a las dietas experimentales y las corvinas consumieron las dietas sin mayor problema.

Diez juveniles de corvina golfina fueron colocadas por tanque con un peso promedio inicial de 33 gramos por tanque, lo que resultó en una biomasa total de $328.4\text{g} \pm 3.6$ por tanque. La tasa de alimentación inicial fue de 3% de la biomasa total dividida en tres raciones al día. El protocolo de alimentación consistió en tres partes iguales diarias alimentando a las 9:00, 13:00 y 17:00 horas, por un periodo de 14 semanas en el que se desarrolló el bioensayo.



Figura 4. Tanques de cultivo de los juveniles de corvina golfina durante el bioensayo.

3.1.4 Crecimiento

Para estimar el crecimiento de los peces durante el bioensayo se realizaron biometrías cada 15 días y se registró el peso (g). En cada biometría los juveniles de corvina golfina fueron capturados con una red de nylon y pesados individualmente utilizando una balanza (AND, Modelo SK-2000WP).

Se calculó la tasa de crecimiento específica (TCE) mediante la siguiente fórmula:

(1)

$$TCE = \frac{\ln pf - \ln pi}{\text{Días de experimento}} \times 100$$

Donde:

lnpf: logaritmo natural del peso final

lnpi: logaritmo natural del peso inicial

3.1.5 Supervivencia

La supervivencia (%) se estimó por medio de la siguiente fórmula:

(2)

$$\text{Supervivencia} = \frac{Nf}{Ni} \times 100$$

Donde

Nf: Número final de organismos

Ni: Número inicial de organismos.

3.1.6 Alimento consumido

Durante el bioensayo se utilizó una tasa de alimentación del 3% de biomasa de los juveniles por día. Esta cantidad se dividió en 3 raciones equitativas y se ofrecieron a las 9:00, 13:00 y 17:00 horas. Al término de la última porción de cada horario se esperó un periodo de 30 minutos y se colectó del fondo del tanque el alimento no consumido por medio de un sifón de vidrio (40cm de largo y 1cm diámetro). El alimento colectado diariamente se secó diariamente por 24 horas en un horno a 70°C, se registró el peso y por medio de diferencia con el alimento otorgado se estimó la cantidad de alimento

consumido. Una vez obtenido el valor del alimento consumido por tanque se dividió entre el número de juveniles para obtener el total de gramos de alimento consumido por organismo.

3.1.7 Tasa de conversión alimenticia

Se calculó la tasa de conversión alimenticia (TCA) para cada tratamiento con la siguiente ecuación:

(3)

$$TCA = \frac{\text{Alimento consumido (g)}}{\text{Peso ganado (g)}}$$

3.1.8 Tasa de eficiencia proteica

La tasa de eficiencia proteica (TEP) se calculó para cada tratamiento con la siguiente ecuación:

(4)

$$TEP = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}}$$

3.1.9 Valor productivo de la proteína

El valor productivo de la proteína (VPP) se calculó para cada tratamiento con la siguiente ecuación:

(5)

$$VPP = \frac{\text{Proteína retenida (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}}$$

3.1.10 Digestibilidad aparente (%)

El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de la materia seca fue analizado para cada dieta experimental por el método de cenizas insolubles en ácido clorhídrico utilizando el protocolo previamente validado por Montaña-Vargas *et al.* (2002). El

método consistió en hervir las cenizas de cada muestra en 10ml de ácido clorhídrico 2N, usando vasos de precipitado de 25ml cubiertos por una tapa de vidrio de reloj para evitar la evaporación. Después de 5 minutos, la solución fue filtrada y el residuo se enjuagó con agua destilada hasta que el ácido se enjuagó en su totalidad. Después se secó en un horno a una temperatura de 100°C durante 1 hora pasado este tiempo se dejó enfriar y posteriormente se registró el peso de las cenizas.

Para determinar el porcentaje de las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (CIA) se utilizó la siguiente fórmula:

(6)

$$\text{CIA (\%)} = \frac{\text{Peso de ceniza insoluble, g}}{\text{Peso muestra (materia seca), g}} \times 100$$

Para determinar el coeficiente de digestibilidad aparente se utilizó la siguiente ecuación:

(7)

$$\text{CDA (\%)} = \left[100 - \left(\frac{\% \text{ cenizas insolubles en dieta}}{\% \text{ cenizas insolubles en heces}} \right) \right] \times 100$$

3.1.11 Análisis químico proximal

Se analizó la composición química proximal de las dietas experimentales, y del músculo de los juveniles de corvina golfina al inicio y al término del bioensayo.

El análisis de la proteína se realizó por el método micro-Kjeldahl. Los lípidos fueron analizados por el método de Folch *et al.* (1957). Se calculó la humedad secando las muestras por 24 horas a 70°C (A.O.A.C., 1990) Las cenizas se estimaron mediante la incineración de la materia orgánica por 24 horas a 500°C (A.O.A.O., 1990) El extracto libre de nitrógeno (ELN) se calculó utilizando la siguiente fórmula:

(8)

$$\text{ELN (\%)} = 100 - \% \text{ Proteína} - \% \text{ Lípidos} - \% \text{ Ceniza.}$$

3.1.12 Análisis estadístico

Se analizaron las medias de los del crecimiento en peso (g), la digestibilidad aparente, la tasa de consumo de alimento y el análisis químico proximal de las dietas y los organismos, utilizando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con una significancia estadística $P \leq 0.05$. Previo al análisis de varianza se realizó la prueba Kolomogorov-Smirnov para evaluar la distribución normal de los datos y la prueba de Leven (Bartlett) para evaluar la homogeneidad de varianza. En aquellos casos en que se encontró diferencia significativa entre las medias se aplicó la prueba post hoc de Tukey con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. Todas las pruebas estadísticas se realizaron mediante el programa STATISTICA® versión 7.

Capítulo 4

Resultados

4.1 Crecimiento en peso (g)

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el peso (g) final entre los peces alimentados con las diferentes dietas experimentales (Figura 5). Se registró el valor más alto en el peso final en los juveniles alimentados con la dieta HSPC100% ($67.6 \pm 6.9\text{g}$). Por el contrario, el menor peso final (g) se registró en los peces alimentados con la dieta HSPO% ($51.6 \pm 4.5\text{g}$). En la figura 6, se presentan las curvas de crecimiento en peso (g) de los juveniles de corvina golfina por tratamiento a lo largo de los 99 días de bioensayo.

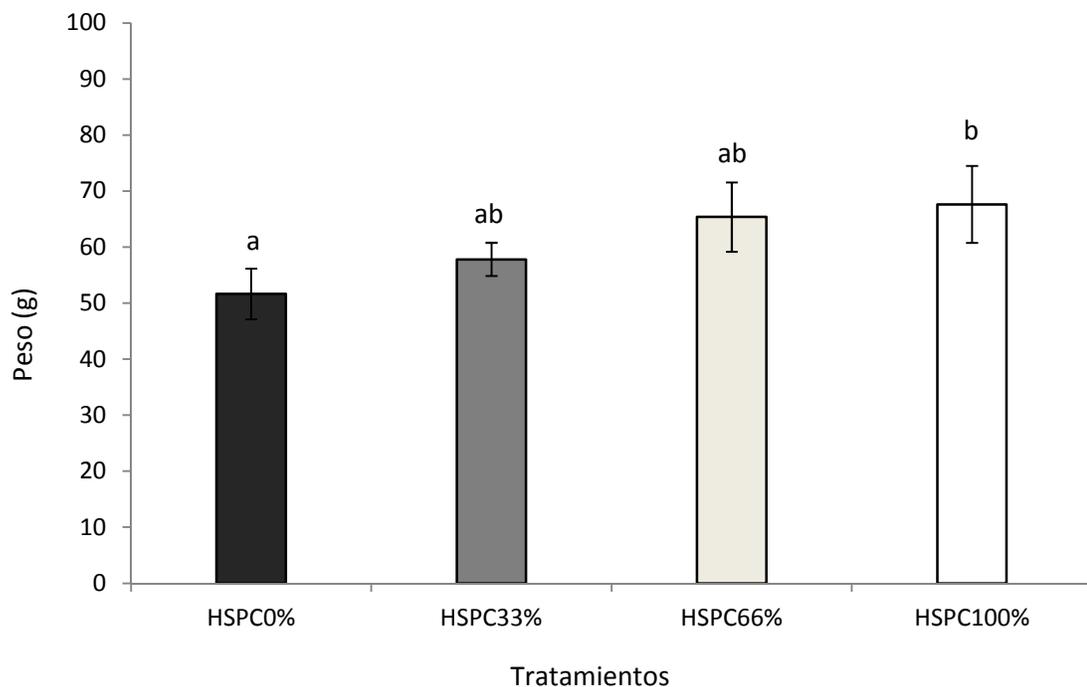


Figura 5. Peso promedio final (g) \pm desviación estándar (DE) de los juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*) alimentados con las diferentes dietas experimentales (HSPC0%, HSPC33%, HSPC66% y HSPC100%). Letras distintas indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

En la figura 6 se muestra el crecimiento en peso (g) de los juveniles de corvina golfina alimentados con cuatro dietas experimentales durante los 99 días de bioensayo.

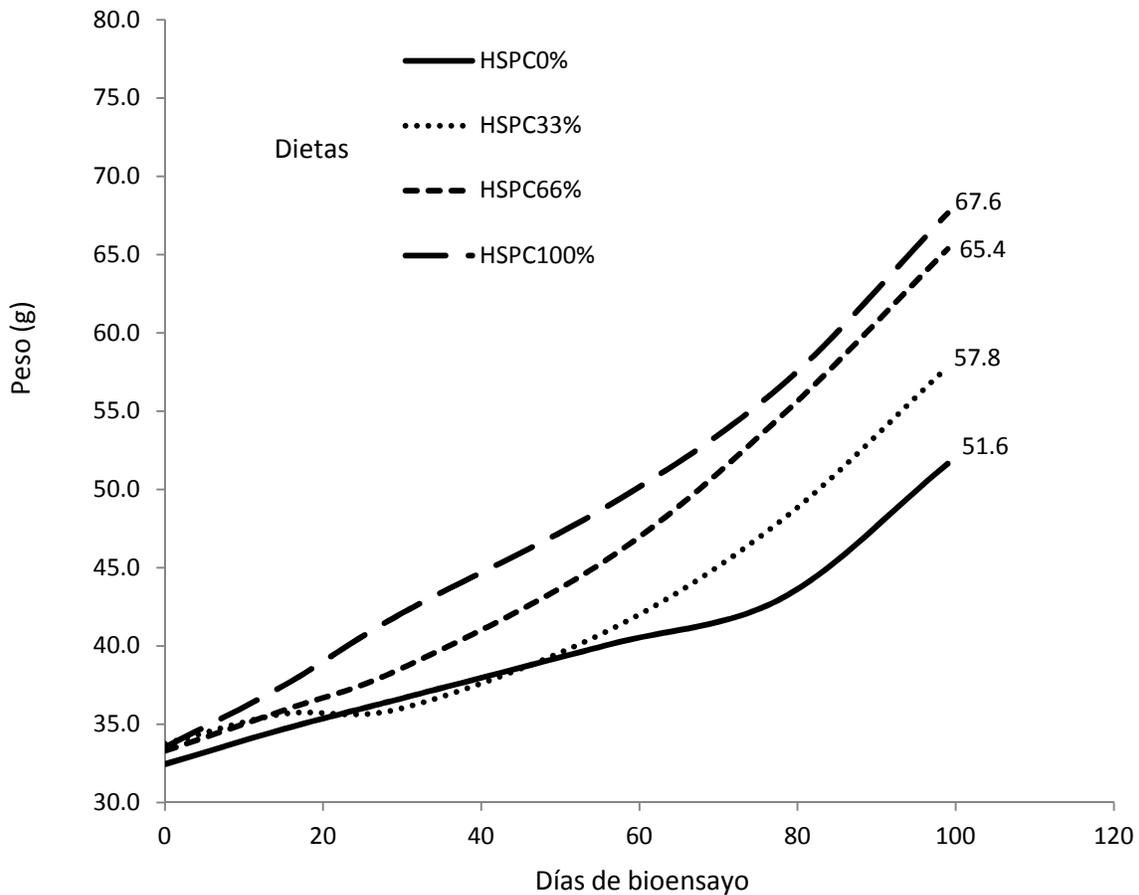


Figura 6. Crecimiento en peso promedio (g) de los juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*) alimentados con las dietas experimentales durante el bioensayo.

4.2 Tasa de crecimiento específico

No se encontró diferencia significativa entre los valores de la tasa de crecimiento específica (TCE). El valor máximo de TCE se registró en los juveniles alimentados con la dieta HSPC100% (0.69 ± 0.1). El valor mínimo fue registrado en los juveniles alimentados con la dieta HSPC0% (0.46 ± 0.1) respectivamente (Tabla 5).

4.3 Supervivencia

No se encontró una diferencia significativa ($P < 0.05$) en la supervivencia durante los 99 días del bioensayo. Entre los cuatro tratamientos del experimento se registró la supervivencia más alta para los tratamientos HSPC66% y HSPC100% ($85\% \pm 7.1$), mientras que el valor menor se registró en el tratamiento HSPC0% ($56.6\% \pm 15.3$) (Tabla 5).

4.4 Alimento consumido

Durante el bioensayo no se registró una diferencia significativa ($P < 0.05$) en el alimento consumido entre las cuatro dietas experimentales (Tabla 5). El mayor consumo de alimento se registró para los peces alimentados con la dieta HSPC66% ($15.2\text{g} \pm 1.3$ de consumo total de alimento por organismo durante el experimento). El valor menor se registró para la dieta HSPC0% con una media de $13.6\text{g} \pm 0.1$.

Tabla 5. Desempeño de los juveniles de *C. thonopterus* alimentados con distintas dietas. Valores representan la media \pm D.E., $n=3$. Letras distintas indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Índices biológicos	Tratamientos				P ANOVA
	HSPC0%	HSPC33%	HSPC66%	HSPC100%	
Pi (g)	32.5 ± 1.2	32.9 ± 1.8	33.3 ± 1.4	33.5 ± 0.6	0.7847
Pf (g)	51.6 ± 4.5^a	57.8 ± 8.1^{ab}	65.3 ± 6.1^{ab}	67.6 ± 6.8^b	0.0371
TCE	0.46 ± 0.1	0.56 ± 0.0	0.68 ± 0.1	0.69 ± 0.1	0.0899
S (%)	57 ± 15.3	80 ± 10.0	85 ± 7.1	85 ± 7.1	0.0745
CA (g)	29.2 ± 0.1	34.8 ± 2.0	44.4 ± 1.3	45.3 ± 0.3	0.6344
CDA (%)	56.2 ± 1.6^a	53.4 ± 1.4^a	54.1 ± 6.2^a	68.3 ± 1.6^b	0.0144
Composición proximal de las dieta experimentales					
Proteína	49.6 ± 1.0	50.2 ± 1.0	49.0 ± 1.7	49.6 ± 2.0	
Lípidos	8.3 ± 0.3	8.3 ± 0.2	8.8 ± 0.2	8.7 ± 0.2	
Ceniza	17.5 ± 0.6	12.8 ± 0.6	8.4 ± 0.4	7.0 ± 0.3	
ELN*	29.3	32.6	33.8	34.7	

*Extracto Libre de Nitrógeno.

Donde: Pi: peso inicial, Pf: peso final, TCE: tasa de crecimiento específico, S: supervivencia, CA: consumo de total de alimento por organismo. CDA: coeficiente de digestibilidad aparente.

4.5 Digestibilidad Aparente (%)

En la figura 7 se presentan los valores de la digestibilidad aparente (%) de la materia seca en las dietas experimentales. Los valores de digestibilidad aparente fueron significativamente mayores para la dieta HSPC100% ($68.3\% \pm 1.6$). Entre los tratamientos restantes (Tabla 5) no se encontraron diferencias significativas en digestibilidad aparente de las dietas. Los valores de digestibilidad aparente menores se registraron en la dieta HSPC33% ($53.4\% \pm 1.4$).

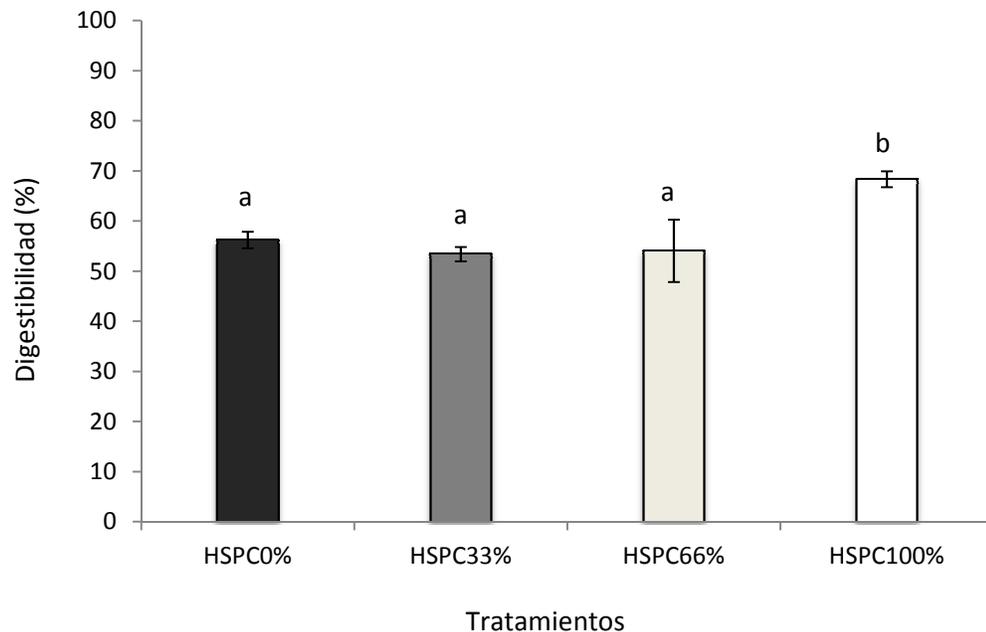


Figura 7. Digestibilidad aparente (%) de los juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*) alimentados con cuatro tratamientos distintos. Letras diferentes marcan diferencia significativa ($P < 0.05$).

4.6 Eficiencia alimenticia

4.6.1 Tasa de conversión alimenticia

No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la tasa de conversión alimenticia (TCA) entre los cuatro tratamientos evaluados (Tabla 6). La TCA de mayor valor, se registró para el tratamiento HSPC0% con un valor promedio de 1.49 ± 0.94 .

Así mismo, se registró el valor más bajo de TCA en el tratamiento HSPC100% (0.42 ± 0.07).

4.6.2 Tasa de eficiencia proteica (%)

Entre los cuatro tratamientos (Tabla 6) no se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la tasa de eficiencia proteica (TEP). Sin embargo, se estimó una TEP numérico mayor en el tratamiento HSPC100% con un valor de 4.83 ± 0.79 . El tratamiento HSPC0% fue el que registró el menor valor numérico de TEP (2.1 ± 1.87).

4.6.3 Valor productivo de la proteína

No se encontró una diferencia significativa ($P < 0.05$) del valor productivo de la proteína (VPP) entre los cuatro tratamientos (Tabla 6). El tratamiento que registró el mayor valor de VPP fue HSPC100% con un valor de 3.7 ± 0.6 . Por lo contrario el tratamiento HSPC0% registró el menor valor de VPP (1.7 ± 1.4).

Tabla 6. Valores de coeficiente de digestibilidad aparente (CDA), tasa de conversión alimenticia (TCA), tasa de eficiencia proteica (TEP) y valor productivo de la proteína (VPP) para los cuatro tratamientos experimentales. Los valores representan la media \pm D.E., $n=3$

	Tratamientos				P ANOVA
	HSPC0%	HSPC33%	HSPC66%	HSPC100%	
TCA	1.5 ± 0.9	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.0	0.1875
TEP	1.3 ± 1.8	1.4 ± 1.0	1.4 ± 0.3	1.5 ± 0.8	0.1857
VPP	1.0 ± 1.4	1.1 ± 0.7	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.6	0.2256

4.7 Composición proximal del músculo de corvina golfina

No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diferentes tratamientos en la composición proximal del músculo de los juveniles de corvina golfina (Tabla 7). El músculo de los juveniles de corvina golfina que registraron el mayor contenido de proteína fueron los alimentados con la dieta HSPC33% ($77.7\% \pm 0.8$). Los juveniles alimentados con la dieta HSPC66% registraron el mayor contenido lípidos ($10.1\% \pm 0.9$). El máximo valor de cenizas en el músculo se registró en los juveniles alimentados con el tratamiento HSPC66% ($7.8\% \pm 0.3$).

Tabla 7. Composición proximal (%) del músculo de *Cynoscion othonopterus* alimentados con cuatro dietas. Los valores representan la media \pm DE.

	Tratamientos				P ANOVA
	HSPC0%	HSPC33%	HSPC66%	HSPC100%	
Proteína	77.4 \pm 0.5	77.7 \pm 0.8	77.0 \pm 0.6	76.9 \pm 0.6	0.5358
Lípidos	8.6 \pm 0.8	9.4 \pm 1.8	10.1 \pm 0.9	10.1 \pm 0.2	0.2926
Ceniza	7.3 \pm 0.6	7.3 \pm 2.0	7.8 \pm 0.5	7.8 \pm 0.3	0.9497
ELN*	6.7	4.4	5.1	5.2	

*Extracto Libre de Nitrógeno

Capítulo 5

Discusión

5.1 Crecimiento

A la fecha se han realizado numerosos estudios evaluando el efecto de la sustitución en dieta de la harina de pescado (HP) por distintas fuentes proteicas, tanto de origen animal como vegetal, teniendo como principal objetivo no afectar negativamente el crecimiento de los organismos, bajar el costo de producción para incrementar la sustentabilidad de la producción acuícola (Pine *et al.*, 2008).

En el presente estudio se formularon cuatro dietas isoproteicas (50%) e isolipídicas (9%) donde se sustituyó la HP por harina de productos de origen animal (HSPC) en 4 niveles de inclusión (0, 33, 66 y 100%). Ya que no están establecidos los requerimientos de aminoácido esenciales de la corvina golfina (*C. othonopterus*), las dietas se formularon con base en los requerimientos de aminoácidos esenciales estimados reportados para la corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*) (Gatlin, 2002). Una especie similar a la corvina golfina, perteneciente también a la familia Sciaenidae y con hábitos ecológicos y alimenticios similares. Las cuatro dietas se formularon con un contenido de aminoácidos esenciales mayor al requerimiento de la corvina dorada por lo que se esperaba un crecimiento similar en los juveniles de corvina golfina para los cuatro tratamientos.

Los resultados en el presente estudio indican un efecto positivo en el crecimiento de los juveniles de corvina golfina (*C. othonopterus*) al sustituir la HP utilizada en un 100% por una mezcla de harina de subproducto de ave y calamar (HSPC). El peso final mayor encontrado ($67.6g \pm 6.8$), se registró en los peces alimentados con la dieta en la que se sustituyó un 100% de la HP (HSPC100%). Esta diferencia fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en comparación con la dieta control (HSPC0%). Así mismo, el valor superior de tasa de crecimiento específico (TCE) se registró en el tratamiento HSPC100% (0.69 ± 0.1). Estos valores son similares a los reportados por de Saadiah *et al.*, (2010) quienes realizaron un estudio en el que evaluaron el efecto de sustituir HP por HSA en 6 dietas isoproteicas (45%) e isolipídicas (12%) en la cobia (*Rachycentrum canadum*). Sus resultados muestran que cuando se sustituyó el 100% de HP no hubo diferencia

significativa ($p < 0.05$) en la TCE en comparación con la dieta control con 0% de HSA. Sin embargo, Saadiah y colaboradores encontraron un peso final significativamente mayor (131.1g) en la dieta con un 60% de HSA, mientras que en el presente estudio el mayor peso final se registró en la dieta HSPC100%. Ellos atribuyen el buen crecimiento de la cobia con en las dietas sin HP, a un contenido óptimo de aminoácidos esenciales que contenían las dietas formuladas con HSA y concluyen que es posible sustituir completamente la HP por harina de subproducto de ave en un 100% sin afectar negativamente el crecimiento de los juveniles de cobia.

Por su parte Abdul Kader *et al.*, (2012) evaluaron el efecto de sustituir la HP por una mezcla de harina de soya y harina de subproducto de calamar en una relación 1:1 evaluando cuatro niveles de sustitución (12, 24, 36 y 48%) para alimentar el lenguado japonés *Paralichthys olivaceus*. Sus resultados indicaron que lograron sustituir hasta un 36% la HP con la harina experimental sin ver afectado negativamente el crecimiento. Sin embargo, ellos encontraron una disminución del crecimiento en los lenguados con la dieta con un 48% de sustitución de HP y lo atribuyen a un desequilibrio de aminoácidos esenciales en esta dieta ya que cuantificaron niveles bajos de metionina, lisina y valina para esa dieta. En el presente estudio las cuatro dietas experimentales tenían niveles de aminoácidos esenciales mayores al requerimiento determinado para la corvina dorada, lo que explica en parte porque fue factible la sustitución de HP hasta un 100%. Estos resultados sugieren que los requerimientos de aminoácidos esenciales para la corvina golfina son probablemente similares a los de la corvina dorada.

Trabajando con la misma especie que el presente estudio, Badillo *et al.* (2013), evaluaron el efecto de 4 niveles de sustitución en dieta de la HP y el aceite de pescado (AP) por una harina compuesta de subproducto de ave y aceite de ave en juveniles de corvina golfina. Los autores reportan haber obtenido un mayor crecimiento (TCE= 0.85 ± 0.01) en los juveniles alimentados con la dieta con un 67% de sustitución de la harina de pescado. Sin embargo, cuando se sustituyeron el 100% del HP + AP, observaron un crecimiento más lento y significativamente menor. Los autores atribuyen estos resultados de bajo crecimiento a una insuficiencia de ácidos grasos esenciales (i.e., EPA y DHA) presentes en esta dieta experimental. En dicho trabajo debido a que se trabajó con isótopos estables para detectar la asimilación los autores establecieron no

poder enriquecer con aceite de pescado para no alterar la huella isotópica. Sin embargo, en el presente trabajo se trata de la sustitución de la fuente proteica por lo cual si se enriquecieron las dietas con el aceite de pescado hasta cubrir el nivel apropiado sin alterar el perfil de ácidos grasos altamente insaturados y poder satisfacer los requerimientos por estos nutrientes en todas las dietas.

Pine *et al.*, (2008) evaluaron el efecto de remplazar la HP en dieta por harina de subproducto de ave en el híbrido de la lobina (*Morone chrysops x M. saxatilis*). Para lo cual elaboraron cuatro dietas isoproteicas (37%) e isocalóricas (4Kcal/g) y formularon a cuatro niveles de sustitución de la HP (0, 33, 67 y 100%). Los autores reportan haber mantenido la temperatura (32°C), el pH (7 a 8.5), el oxígeno disuelto (3.5 mg/L) y un bajo estrés durante el bioensayo. Así mismo, los autores reportan no haber encontrado diferencias significativas ($P < 0.05$) en el crecimiento (TCE) entre los tratamientos, con valores promedios de TCE de 1.84 ± 0.02 , y concluyen que fue factible la sustitución de HP por harina de subproducto de ave para dietas del híbrido de la lobina rayada.

Intentando explicar los resultados obtenidos en el presente estudio y analizando algunas diferencias entre las dietas experimentales formuladas podríamos mencionar que al comparar las dietas en cuanto su composición proximal (%) destaca las diferencias en el contenido de cenizas (Tabla 4). En particular, la dieta con 100% harina de pescado (HSPC0%), contenía un $17.5 \pm 0.6\%$ de ceniza y fue el más elevado de todas las dietas analizadas. Este contenido alto de ceniza pudiera en parte explicar el bajo crecimiento en peso observado ($51.6 \pm 4.5\text{g}$), en los juveniles alimentados con la dieta HSPC0%, debido a que los niveles altos de ceniza pudieran afectar la digestibilidad aparente de la materia seca en los juveniles alimentados con la dieta experimental HSPC0% (Church, 1998). Así mismo, un exceso de minerales en la dieta puede afectar negativamente a los organismos. Por ejemplo, el exceso de Ca reduce la absorción y utilización de otros minerales, el exceso de P reduce la absorción de calcio y el exceso de Mg reduce el consumo de alimento. Aunque cabe mencionar que en el presente estudio no se cuantificó el contenido de estos minerales, pudiera en parte, estar relacionado con los resultados obtenidos. Además, los minerales son importantes para realizar funciones fisiológicas. Por ejemplo, ser componentes de la estructura ósea (Ca y P) y algunos estar involucrados en los procesos enzimáticos activando las

enzimas (i.e., Na, K y Cl) (Church, 1988). Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Shearer *et al.*, (1992) en juveniles de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) en el que elaboraron seis dietas experimentales isoprotéicas (50%) e isolipídicas (15%) para evaluar el efecto del incremento de cenizas en la dieta sobre el crecimiento y la digestibilidad de los juveniles de salmón. El nivel de ceniza en sus dietas incrementó de 10.5 a 17.5% conforme aumentaron el nivel de harina de pescado en la elaboración de las dietas. Estos autores reportan el menor crecimiento (i.e., peso final $29.2 \pm 2.8\text{g}$) para los juveniles de salmón alimentados con la dieta que contenía un 15.5% de cenizas. Los autores concluyen que el incremento de cenizas en dietas puede reducir la eficiencia alimenticia en juveniles del salmón del Atlántico, ya que se sabe que un aumento en los niveles de Ca en la dieta puede reducir la biodisponibilidad del Mg, pudiendo ocasionar disminución en la ingesta de alimento, pérdida de reflejos y una depresión cardiovascular. Así mismo, aunque los autores reportan un bajo contenido de Zn en el plasma de los juveniles, no encontraron ningún síntoma asociado a la deficiencia del Zn.

5.2 Supervivencia

Al término del bioensayo no se registraron diferencias significativas ($P < 0.05$) para los juveniles alimentados con las distintas dietas. Sin embargo, una amplia variación en los valores de supervivencia podría haber sido la causa de que las diferencias no llegaran a ser significativas. Con valores más altos para el tratamiento HSPC66% y HSPC100% ($85 \pm 7.1\%$) y el valor más bajo, para los juveniles alimentados con la dieta HSPC0% ($56.6 \pm 15.3\%$). Las mortalidades observadas, en parte, se pudieran haber debido a la falta de disponibilidad de algunos nutrientes, ya que se observó un bajo consumo de alimento de la dieta HSPC0% durante el primer mes del bioensayo que pudo afectar negativamente a los organismos. Pine *et al.* (2008) reportan resultados similares en su estudio con la lobina híbrida donde observaron valores de supervivencia entre $81.6 \pm 4.9\%$ y 86.3 ± 0.4 .

5.3 Consumo de alimento

Aunque no se encontró una diferencias significativas ($P < 0.05$) en el consumo de alimento entre los diferentes tratamientos, por lo general, las dietas con harina

experimental (HSPC) eran mejor aceptadas por los peces (observación visual no reportada). Esto indica que los juveniles de corvina golfina eran más atraídas por las dietas formuladas con ingredientes alternativos de origen animal, posiblemente debido al aporte de moléculas atrayentes aportadas por la harina de calamar en la formulación de las dietas experimentales. Datos similares reportan Shapawi y colaboradores (2007) quienes evaluaron el efecto de la sustitución en la dieta de la HP por harina de subproducto de ave (feed grade) en 50, 75 y 100% de de sustitución y harina de subproducto de ave (pet food grade) en 75 y 100% en el mero jorobado (*Cromileptes altivelis*). Estos autores reportan no haber encontrado diferencias significativas ($P < 0.05$) en el consumo de alimento, sugiriendo aceptación en el consumo de dietas formuladas con harina de subproducto de ave para el mero jorobado. Así mismo, reportan valores consumo de alimento de 20.7g para la dieta control (HP) y 22.6g en la harina de subproducto de ave (pet food) grade en 75% de sustitución.

5.4 Digestibilidad aparente

Una manera de evaluar la calidad de los nutrientes en ingredientes y las dietas es por medio de su digestibilidad. En el presente estudio se cuantificó la digestibilidad aparente de la materia seca de las cuatro dietas utilizadas para alimentar los juveniles de corvina golfina. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la digestibilidad de las dietas, en donde el tratamiento HSPC100% ($68.3\% \pm 1.6$) fue significativamente mayor que el resto de las dietas, con menor digestibilidad con la dieta HSPC0% ($53.4\% \pm 1.4$). Así mismo, se encontró una relación significativa y directamente proporcional ($r^2 = 0.62$) entre el nivel de la harina experimental y la digestibilidad de las dietas. Cabe mencionar que en el proceso de recolección de heces, en la técnica aplicada para cuantificar el coeficiente de digestibilidad aparente (Método de cenizas insolubles en ácido) en el presente estudio, se debe tener en cuenta que pudiera existir un proceso de lixiviación en las heces colectadas, ocasionando un error al momento de cuantificar las cenizas insolubles, pudiendo subestimar los valores de digestibilidad. Sin embargo, este error estaría presente para los cuatro tratamientos.

Gaylord y Gatlin (1996) reportan valores de digestibilidad de la materia seca (88.41%) en la corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*) para una dieta experimental formulada con harina de subproducto de ave (30%) y con harina de pescado de arenque (70%). Sin

embargo reportan una alta digestibilidad de la materia seca (93.8%) de la dieta elaborada con harina de pescado de arenque. Estos datos no concuerdan con los registrados en el presente estudio donde los juveniles de corvina golfina alimentados con la dieta elaborada con HP 100% (harina de sardina) registró el menor valor de digestibilidad ($53.4\% \pm 1.4$). Gaylord y Gatlin reportan haber obtenido la digestibilidad más baja con la dieta elaborada con HP de arenque (70%) y con harina de subproducto de ave (30%), y lo atribuyen a una mala calidad de la harina de subproducto de ave, basados en el hecho de que la HSA redujo significativamente a la actividad de la pepsina en su estudio. Los autores mencionan que la calidad de las harinas de subproductos de origen animal, puede variar dependiendo de la cantidad y calidad relativa de los diferentes productos de deshechos que conforman las harinas. Como se menciona anteriormente, altos niveles de ceniza en la dieta pueden afectar negativamente la digestibilidad aparente de la materia seca de la dieta y eso explica parcialmente nuestros resultados observados con las dietas con alto contenido de HP. Entre los parámetros de la calidad de las harinas de pescado en la industria mundial, se suele utilizar como indicador de una mala calidad de la HP el contenido de cenizas en la harina. Por lo general se recomienda un contenido de cenizas en la harina de pescado de anchoveta menor al 14 y 15% (Stickney, 2000). En el presente estudio la harina de pescado de sardina utilizada tenía un alto contenido de cenizas (17.5%).

Por otra parte Sugiura *et al.* (2000) evaluaron el coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca para la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada con distintos ingredientes de origen animal (harina de pescado de arenque, harina de pescado blanco sin hueso, harina de pescado blanco con piel y hueso, harina de carne y hueso, harina de pluma y harina de sangre). Ellos reportan que las truchas alimentadas con los ingredientes con alto contenido de ceniza como la harina de pescado blanco con piel y hueso (38.51%) y al harina de carne y hueso (31.07%), fueron las que registraron los valores de digestibilidad aparente menores (50.5 y 55.9%, respectivamente). Al igual que en el presente estudio los autores reportan los valores más bajos de digestibilidad en las dietas experimentales con mayor contenido de ceniza.

Por otra parte, Wei *et al.* (2006) evaluaron la digestibilidad aparente en el lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) alimentado con cinco dietas experimentales, en el que se sustituyó la HP en la dieta por harina de carne, en cinco niveles (0, 20, 40, 60 y 80%). Todas las dietas experimentales se formularon isoprotéicas (45%) e isolipídicas (10%). En sus resultados reportaron una disminución de la digestibilidad conforme se aumentó el nivel de sustitución de HP en la dieta. Los autores mencionan que una posible causa de la baja digestibilidad (49.5%) de la dieta con 80% de sustitución de HP, pudiera ser ocasionado a la mala calidad de la harina de carne, debido a su alto contenido de cenizas (13.7%). Así mismo, Anderson *et al.*, (1997) evaluaron la digestibilidad de 16 harinas de pescado de diferente calidad en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ellas. Los autores reportan el mayor valor de digestibilidad (98.2%) en las dietas formuladas con la harina de pescado noruego (Norse-LT94[®]). Según los autores esta harina es considerada como de muy alta calidad por la frescura de su materia prima y el procesamiento a bajas temperaturas. En contraste el menor valor de digestibilidad (86.7%) se estimó para una harina de arenque hembra procesada bajo condiciones estándar y sin mucho control. Estos resultados corroboran que las harinas de pescado de diferente calidad tienen diferente digestibilidad, lo que en parte pudiera explicar la baja digestibilidad de la dieta HSPC0% en el presente estudio. Sin embargo, otra cosa que pudo suceder en el presente estudio es que la calidad de la harina experimental (HSPC) era de muy buena calidad, aun mejor que la de la harina de pescado y por esto se registró una mejor digestibilidad para este ingrediente.

5.5 Eficiencia alimenticia

En el presente estudio se evaluó la eficiencia alimenticia por medio de los valores de la tasa de conversión alimenticia (TCA), la tasa de eficiencia proteica (TEP) y del valor productivo de la proteína (VPP). A pesar de haberse encontrado diferencias significativas en el peso final de los juveniles, no se encontraron diferencias en ninguno de estos parámetros entre los diferentes tratamientos. Shapawi y colaboradores (2007) encontraron valores similares en su estudio evaluando el efecto de la sustitución en la dieta de la HP por HSA para el mero jorobado (*Chromileptes altivelis*), sin embargo si reportaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los valores de TCA para el mero,

obteniendo el mejor valor (1.5) en la dieta de 100% de sustitución. Así mismo, registraron diferencia significativa en la TEP, el mejor valor (1.8) para la dieta de 0% de sustitución de HP. Indicando que en la corvina golfina no afecta negativamente la eficiencia alimenticia (i.e., TCA, TEP y VPP) la harina de origen animal en la formulación de dietas para engorde.

5.6 Composición proximal del músculo

No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la composición proximal (%) del músculo para los juveniles de corvina golfina alimentados con las cuatro dietas experimentales. Esto indica que el nivel de sustitución de la HP en la dieta por la HSPC, no afectó significativamente la cuantificación de la composición proximal en los juveniles de corvina golfina. Estos datos difieren con los de Durazo *et al.* (2010) en el que evaluaron el efecto de la proteína digestible en juveniles de *Atractoscion nobilis*. Los autores elaboraron cinco dietas experimentales isonitrogenadas, reduciendo la digestibilidad de la proteína cruda (541, 491, 372, 347 y 247 g kg⁻¹) en la dieta, procesando la proteína con formaldehído. Durazo y colaboradores reportaron una disminución de la proteína cruda en el musculo al disminuir la proteína digestible en la dieta, posiblemente a la falta de biodisponibilidad del nutriente. Como lo indican los resultados de la digestibilidad de la materia seca de las dietas del presente estudio, es probable que la proteína disponible fuera mayor para las dietas elaboradas con la harina experimental.

Conclusiones

- Se puede sustituir hasta el 100% la harina de sardiana por harina de productos de origen animal (harina de subproducto de ave y harina de calamar con una relación 3:1) en las dietas para juveniles de corvina golfina sin afectar negativamente los parámetros de producción.
- El alto contenido de cenizas de la harina de pescado utilizada en el presente estudio (harina de sardina) probablemente afectó negativamente la digestibilidad de las dietas en los juveniles de corvina golfina lo que resultó en una menor disponibilidad de nutrientes presentes y un menor crecimiento en los peces alimentados con las dietas con un alto contenido de este ingrediente en la (HSPC0%)
- En el presente estudio se logró sustituir el 100% de la HP por el subproducto de ave al incorporar aceite de pescado (i.e., alto contenido de ácidos grasos esenciales, HUFA's n-3) lo cual recalca la importancia de satisfacer los requerimientos nutricionales.
- Se debe continuar trabajando en determinar los requerimientos nutricionales para la corvina golfina para obtener mejores tasas de crecimiento que la lleven a ser un excelente candidato para la acuicultura nacional de peces marinos.

Recomendaciones

- Es importante un periodo de bioensayo más prolongado para monitorear el rendimiento de la corvina golfina en condiciones de cultivo alimentadas con dietas experimentales para obtener información de su crecimiento hasta tallas comerciales.
- Es recomendable formular dietas para el requerimiento de aminoácidos esenciales de la corvina golfina y no afectar los parámetros de producción en su cultivo, por lo que es importante cuantificar el perfil de aminoácidos esenciales del músculo de la corvina golfina y en base a éstos formular dietas de engorde.
- Es importante mejorar la recolección de heces del fondo del tanque experimental para evitar un posible proceso de lixiviación con aumentado la relación materia orgánica - minerales en las heces, lo cual pudiera sobreestimar los valores de digestibilidad aparente.

Referencias bibliográficas

- Abdul, K., Shunsuke, K., Manabu, I., Saichiro, Y. & Mahbuba, B. (2010). Supplemental effects of some crude ingredients in improving nutritive values of low fishmeal diets for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. 308:136-144.
- Abdul, K., M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Nguyen, B. T., Laining, A. (2012). Can fermented soybean meal and squid by-product blend be used as fishmeal replacements for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)? *Aquaculture Research*. 43(10): 1427–1438. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02945.x
- Anderson, S.J., Lall, S.P., Anderson, D.M. & McNiven, M.A. (1993). Evaluation of protein quality in fish meals by chemical and biological assays. *Aquaculture*. 115: 305-325.
- Andrew, P., & Aldon, F. (2010). ¿ Cuánto pescado consume la acuicultura ? *IFFO*, 2–5. Recuperado de http://www.iffo.net/system/files/FIFO%20infopesca%20solo%20IFFO%20publication_0.pdf#overlay-context=publications
- Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official methods of analysis of AOAC international. Arlington. Recuperado de <http://www-biblio.inti.gov.ar/manuales/131801.pdf>.
- Bureau, D. P. (1996) Nutritional value of rendered animal protein ingredients for salmonids in the 90'S. In: The Canadian Feed Industry Association and 1996 Eastern Nutrition Conference, May 15-17. (pp. 239- 246) Dartmouth, Nova Scotia.
- Bureau, D.P. (2006). Rendered products in fish aquaculture feeds. In: Meeker, D. L. (ed). Essential rendering. National Renderers Association, (pp 179–194). Kirby Lithographic Company. Arlington, Virginia.
- Carter, C., Hauler, R. (2000). Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*. 185(3-4): 299–311. doi:10.1016/S0044-8486(99)00353-1.
- Castell, J. D. (1986). International Crustacean Nutrition Study. Suggested experimental design. *The Crustaceans Nutrition Newsletter*. 3(1):21-2.
- Chao, N.L. (1995). *Sciaenidae*. Corvinas, babiches, bombaches, corvinatas, corvinetas, corvinillas, lambes, pescadillas, roncachos, verrugatos. Recuperado de http://www.fao.org.mx/index_archivos/Biblioteca%20virtual_archivos/Guia_FAO_para_la_identificacion_de_especies_para_los_fines.htm.
- Chi, S., Tan, B., Mai, K., & Zheng, S. (2009). Growth and feed efficiency of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* fed formulated diets containing different levels of poultry by-product meal. *Journal of Ocean University of China*. 8(4): 399–403. doi:10.1007/s11802-009-0399-8.

- Cho, C. Y., Bayley, H.S., & Slinger, S.J. (1974). Partial replacement of herring meal with soybean meal and other changes in a diet for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fisheries Research Board Canada* 31:1523–1528.
- Cho, C. Y., Slinger, S.J. (1979). Effect of water temperature on energy utilization in rainbow trout. In: Mont, S.E. (ed) *Proceedings of the Eighth Symposium on Energy Metabolism in Farm Animals*. (pp. 287-291). Cambridge University Press. UK.
- Cho, C. Y., Kaushik, S.J. (1985). Effects of protein intake on metabolizable and net energy values of fish diets. In: Cowey, A. M., Mackie & Bell J. G. (eds) *Nutrition and Feeding in Fish*. (pp. 95-117). Academic Press. London.
- Cho, C.Y., Slinger, S.J. (1979). Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Hamburg June 20-23, 1978. Vol.II. Berlin*. pp. 239-247.
- Curch, D.C., Pond, W.G. (1998). *Basic animal nutrition and feeding*. pp-472.Wiley. New York.
- Columbia, B. (1997). Fish meal quality assessment for Atlantic salmon (*Salmo salar*.) reared in sea water. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2095.1997.00067.x/abstract>
- Cruz-Suárez, L. E., Guillaume, J. (1987). Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. *J. World Aquac. Soc.* 18:209-17.
- D'Abramo, L., Lovell, T. (1991). Aquaculture research needs for the year 2000: fish and crustacean nutrition. *J. World Aquac. Soc.* 22:57-62.
- Dabrowski, K., Leray, C., Nonnette, G., & Conlin, D.A. (1986). Protein digestion and ion concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) digestive tract in sea- and freshwater. *Comp. Biochem. Physiol.*83:27-39.
- Daniels, W. H., Robinson, E. H. (1986). Protein and energy requirements of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*. 53:243-252.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A., (1995). *Fish Nutrition in Aquaculture*. London. Chapman and Hall.
- Diario Oficial de la Federación (2012). Plan de Manejo Pesquero de Curvina Golfina (*Cynoscion othonopterus*) del norte del Golfo de California. México. Texto vigente. Recuperado de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5276662& fecha= 06/11/2012.
- Dong, M.F., Hardy, R.W., Haasd, F.N., Barrows, F.T., Rasco, B., Fairgrieve, W. & Forster, I. (1993). Chemical composition and digestibility of poultry by-product meals for salmonid diets. *Aquaculture*. 116: 149-158.

- Durazo, E., Cruz, A.C., López, L.M., Lazo, J.P., Drawbridge, M., & Viana, M.T. (2010). Effects of digestible protein levels in isonitrogenous diets on growth performance and tissue composition of juvenile *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture Nutrition*. 16: 54-60.
- EL-Haroun, E. R., Azevedo, P. A., & Bureau, D. P. (2009). High dietary incorporation levels of rendered animal protein ingredients on performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972). *Aquaculture*. 290(3-4): 269–274. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.02.014
- Elliot, J. M. (1976). Energy losses in the waste products of brown trout (*Salmo trutta*). *J Anim. Ecol.* 45(2): 561-580.
- Foltz, J. W. (1978). The effects of meal size and temperature on gastrointestinal motility and absorption in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). (Ph.D. dissertation). University of Colorado, Boulder, Colorado.
- Garcia, T., Villarreal, H., & Fenucci, J. (2007). Manual de ingredientes proteicos. Eudem. Mar de Plata. 263 p.
- Gaylord, T. G., Gatlin, D. (1996). Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*), *Aquaculture*. 139(95): 303–314.
- Grey, M., Forster, I., Dominy, W., Ako, H., & Giesen, A.F., (2009) Validation of a feeding stimulant bioassay using fish hydrolysates for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.* 40:547–555.
- Higgs, D. A., Dosanjh, B.S., Prendergast, A.F., Beames, R.M., Hardy, R.W., Riley, W. & Deacon, G. (1995). Use of rapeseed/canola protein products in Finfish diets. In: Lim, C. & Sessa, D. (eds.) *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*. (pp130-156). AOCS Press, Champaign.
- Higgs, D. A., Markert, J. R., Macquarrie, D. W., McBride, J. R., Dosanjh, B. S., Nichols, C. & Hoskins, G. (1979). Development of practical dry diets for coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), using poultry by-product meal, feather meal, soybean meal and rapeseed meal as major protein sources. In : Halver, J.E. & Tiews, K. (Eds), *Finfish Nutrition and Fish Feed Technology*. Heenemann Verlagsgesellschaft. Berlin. (pp191-218).
- Jackson A. (2012). Fishmeal and fish oil and its role in sustainable aquaculture. IFFO. UK. Recuperado de http://www.ifo.net/system/files/Article%20International%20Aquafeed%20October%202012_0.pdf#overlay-context=publications.
- Jamil, K., Abbas, G., Akhtar, R., Lin, H., & Li, Z. (2007). Effects of replacing fishmeal with animal by-products meal supplementation in diets on the growth and nutrient utilization of mangrove red snapper. *Journal of Ocean University of China*. 6(3): 292–298. doi:10.1007/s11802-007-0292-2.

- Kearns, P. J. (1990) Método Wegner para la extrusión de alimentos acuícolas, En: Memorias del seminario sobre Extrusión de Alimentos Balanceados. Asociación Americana de la Soya. (pp 23-39). Guadalajara.
- Kader, M. A., Bulbul, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Nguyen, B. T., & Komilus, C. F. (2012). Effect of complete replacement of fishmeal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. 350-353: 109–116. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.04.009.
- Knapp G. (2008). Offshore Aquaculture in the United States: Economic Considerations, Implications & Opportunities. Recuperado de http://www.nmfs.noaa.gov/aquaculture/docs/economics_report/econ_report_all.pdf.
- Kofuji, P.Y.M., Hosokawa, H., & Masumoto, T. (2006). Effects of dietary supplementation with feeding stimulants on yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel; Carangidae) protein digestion at low water temperatures. *Aquac. Res.* 37: 366–373.
- Kubitza, F., Lovshin, L.L., & Lovell, R.T., (1997). Identification of feed enhancers for juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture*. 148:191–200.
- Mangalik, A. (1986). Dietary energy requirements of channel catfish. (Ph.D. dissertation). Auburn University, Auburn, Alabama.
- Marsh, J., Fox, M. (2007). Gulf of California Seafood Report. Seafood Watch. Monterey Bay Aquarium. Southwest Region. (pp 71).
- McCasland, W. E. (1965). Nutritive value of hydrolyzed feather meal. (Master in Science Dissertation), Texas A&M University, College Station, Texas.
- McGoogan, B. B., Gatlin, D. M. (1997). Effects of Replacing Fish Meal with Soybean Meal in Diets for Red Drum *Sciaenops ocellatus* and Potential for Palatability Enhancement, *J. world aquac. Soc.* 28(4):374–385.
- McGoogan, B.B., Gatlin, D.M. (1998). Metabolic requirements of red drum, *Sciaenops ocellatus*, for protein and energy based on weight gain and body composition. *J. Nutr.* 128:123-129.
- Meeker, D. L., Hamilton, C. R. (2006). An Overview of the Rendering Industry. In: Meeker, D.L. (ed). *Essential Rendering. All About The Animal By-Products Industry.* (pp.1-16). Kirby Lithographic Company, Inc. Arlington.
- Mendoza, R., Aguilera C. & Montemayor, J. (2000). Utilización de subproductos avícolas en las dietas para organismos acuáticos. En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. & Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV.* Recuperado de http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/IV/.

- Montaño-Vargas, J., Shimada, A., Vásquez, C., & Viana, M.T., 2002. Methods of measuring feed digestibility in the green abalone (*Haliotis fulgens*). *Aquaculture* 213: 339–346.
- Montemayor, J., Mendoza, R., Aguilare, C., Rodriguez, G., Lora C., & Civera, R., (1998). Utilización de atractantes alimenticios en dietas formuladas para crustáceos de interés comercial. En: Civera, R., Perez, C.J., Ricque, M. D., Cruz-Suarez L.E., (eds). Recuperado de http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/IV/.
- National Research Council (2011). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academic Press. Washington. DC. Recuperado de <http://www.nap.edu/catalog/2125.html>.
- New, M.B., Csavas, Y. (1995). A summary of aquafeed production in eleven Asian countries. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/003/v4430e/v4430e00.htm>.
- Nose, T. (1960). On the digestion of food protein by goldfish (*Carassius auratus L.*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Recuperado de www.nutricionacuicola.uanl.mx/numeros/3/2.pdf.
- Nose, T. (1967). Recent advances in the study of fish digestion. In: Gaudet, J.L. (ed) Symposium on Feeding in Trout and Salmon Culture. European Inland Fisheries Advisory Commission Technical Paper No. 3. (pp 83-94). Rome.
- Papatryphon, E., Soares, J.H. (2000). The effect of dietary feeding stimulants on growth performance of striped bass *Morone saxatilis*, fed-a-plant feedstuff-based diet. *Aquaculture*. 185: 329–338.
- Paredes, G. A., Erisman, B., Mascareñas, I., Cota, J., Gherard, K., & Abruto, O. (2010). La Curvina Golfina: Biología, Pesquería y Su Gente. *Biodiversitas*. 91: 1-15.
- Postgate, J. R. (1969). Viable counts and viability. In: Norris, R., Ribbons, D.W. (ed.) *Methods in microbiology*. (pp.34-56). Academic Press. London.
- Rana, K.J., Siriwardena, S., & Hasan, M.R. (2009). Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. Recuperado de <http://www.cabdirect.org/abstracts/20103269836.html;jsessionid=968FCE62544EC80C6D69D21D7EE37D71>.
- Rawles, S. D., Riche, M., Gaylord, T. G., Webb, J., Freeman, D. W., & Davis, M. (2006). Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂) in recirculated tank production. *Aquaculture*. 259(1-4): 377–389. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.05.053
- Roberts, R. J. (2002). Nutritional Pathology. In: Halver, J, Hardy, R. (ed), *Fish Nutrition*. (pp.453-504). Elsevier. Amsterdam
- Robinson, E. (1990). Use of cottonseed meal in catfish feeds. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-7345.1989.tb01011.x/abstract>.

- Román-Rodríguez, M. (2000). Informe final del proyecto L298 Estudio poblacional del chano Norteno, *Micropogonias megalops* y la curvina golfina *Cynoson othonopterus* (Pisces:Sciaenidae), especies endémicas del Alto Golfo de California, México. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfL298.pdf>.
- Rueda-López, S., Lazo, J.P., Correa Reyes, G., & Viana, M.T. (2011). Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*. 319: 385-390.
- Rumsey, G. L. (1993). Fish meal and alternate sources of protein in fish feeds update 1993. *Aquaculture*. 18(7): 14-19.
- Saadiah, I., Abol-Munafi, a. M., & Che Utama, C. M. (2010). Replacement of fishmeal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using poultry by-product meal. *Aquaculture International* 19: 637–648. doi:10.1007/s10499-010-9378-8.
- Saavedra, M., Revilla, E., Martín, N., & Cárdenas S. (2012). Engorde de corvina *Argyrosomus regius* y de lubina *Dicentrarchus labrax*, en estanque de tierra con flujo continuo de agua. Recuperado de http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/37_1.pdf.
- Salgado, I. (2006). Efecto de dos dietas con diferente fuente proteica animal en la fase de engorde de *Macrobrachium rosenbergii*. Recuperado de <http://red-arpe.cl/document/engorde.pdf>.
- Sanz, a, García Gallego, M., & De la Higuera, M. (2000). Protein nutrition in fish: protein/energy ratio and alternative protein sources to fish meal. *Journal of physiology and biochemistry*. 56(3): 275–82. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11198164>.
- Satoh, S., Cho, Y., & Watanabe, T. (1992). Effect of fecal retrieval timing on digestibility of nutrients in rainbow trout diet with the Guelph and TUF feces collection systems. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58: 1123-1127.
- Serrano, J.A., Nematipour, G.R., & Gatlin, D.M. (1992). Dietary protein requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbohydrate and lipid. *Aquaculture*. 101: 283-291.
- Shapawi, R., Ng, W.-K., & Mustafa, S. (2007). Replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture*. 273(1): 118–126. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.09.014.
- Sheare, K. D., Maage, A., & Opstvedt, J. (1992). Effects of high-ash diets on growth , feed efficiency , and zinc status of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 106: 345–355.

- Sikorski, Z., Kolodziejska, I. (1986). The Composition and Properties of Squid Meat. *Food Chem.* 20: 213-224.
- Smith, R. R., Peterson, M.C., & Allred, A.C. (1980). The effect of leaching on apparent digestion coefficients in determining digestibility and metabolizable energy of feedstuffs for salmonids. *Prog. Fish-Cult.* 42: 195-199.
- Steffens, W. (1994) Replacing fish meal with poultry by-product meal in diets for rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 124: 27-34.
- Stickney, R.R. (2000). *Encyclopedia of aquaculture.* Wiley. New York. 1063 p.
- Sullivan, J. A., & Reigh, R. C. (1995). Apparent digestibility of selected feedstuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* ♀ X *Morone chrysops* ♂). *Aquaculture.* 138(1-4): 313–322. doi:10.1016/0044-8486(95)01071-8.
- Takeuchi, T., Watanabe, T. & Ogino, C. (1979). Optimum ratio of dietary energy to protein for carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 45: 983-987.
- Toften, H., Arnesen, A.M., & Jobling, M. (2003). Feed intake, growth and ionoregulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts in relation to dietary addition of a feeding stimulant and time of seawater transfer. *Aquaculture.* 217: 647–662.
- Webster, C., Lim, C., (2002). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. Recuperado de <http://www.amazon.es/Nutrient-Requirements-Feeding-Finfish-Aquaculture/dp/0851995195>.
- Wei, Z. H. U., Kangsen, M. A. I., Baigang, Z. H. A. N. G., Yangjiang, H. U., & Y, Y. U. (2006). A Study on the Meat and Bone Meal or Poultry By-product Meal as Protein Substitutes of Fishmeal in Concentrated Diets for *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Ocean University of China.* 5(1): 63–66.
- Wilson, R. (2002). Amino Acids and Proteins. In: Halver, J., Hardy, R. (eds), *Fish Nutrition.* (pp.143-179). Elsevier, Amsterdam.
- Wilson, R. P., & Poe, W.E. (1985). Apparent digestibility protein and energy coefficients of feed ingredients for channel catfish. *Prog. Fish- Cult.* 47: 154-158.
- Windell, J. T., Foltz, J.W., & Sarokon, J.A. (1978a). Effect of body size, temperature and ration size on the digestibility of a dry pelleted diet by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 107: 613-616.
- Windell, J. T., Foltz, J.W., & Sarokon, J.A. (1978b). Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. *Prog. Fish- Cult.* 40(2): 51-55.
- Woodroffe, J. M. (1993) Dry extrusion applications in the feed industry. Recuperado de www.asaimsea.com/download_doc.php?file=FT33.