# Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California



### **Doctorado en Ciencias en Acuicultura**

Evaluación del nivel de los macronutrientes en dietas formuladas para el erizo morado *Strongylocentrotus* purpuratus y su efecto en el índice gonádico y la calidad gonadal

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

Presenta:

Diana Maria Cuesta Gomez

Ensenada, Baja California, México **2017** 

### Tesis defendida por Diana Maria Cuesta Gomez

y aprobada por el siguiente Comité

**Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra**Directora de tesis

Miembros del comité

Dra. María Teresa Viana Castrillón

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera

Dr. Julio Said Palleiro Nayar



**Dr. Benjamín Barón Sevilla**Coordinador del Posgrado en Acuicultura

**Dra. Rufina Hernández Martínez**Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Diana Maria Cuesta Gomez** como requisito parcial para la obtención del grado de Doctor en Ciencias en Acuicultura.

Evaluación del nivel de los macronutrientes en dietas formuladas para el erizo morado Strongylocentrotus purpuratus y su efecto en el índice gonádico y la calidad gonadal

Resumen aprobado por:

Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra

Director de tesis

Entender los efectos de los nutrientes en las dietas para Strongylocentrotus purpuratus, en particular el nivel de proteínas, carbohidratos y lípidos, contribuirá al desarrollo de alimentos formulados para la acuicultura de este erizo. Individuos adultos de S. purpuratus fueron alimentados con dietas formuladas en tres experimentos independientes. En el primero, distintas razones de proteína/ carbohidrato; en el segundo, diferentes niveles de inclusión de proteínas y carbohidratos y en el tercero, distinto nivel y fuente de lípidos. Esto, con la finalidad de estimar el nivel de los macronutrientes óptimo para mejorar el incremento en peso e índice gonadal, aunado a la mejor calidad de la gónada. Para observar los efectos de los nutrientes en dietas sobre el crecimiento y calidad de las gónadas, se consideraron variables de respuesta al peso gonadal, índice gonadal, calidad (color, firmeza, textura y sabor), composición bioquímica del tejido gonadal y la valoración del estadio reproductivo. Todas las dietas generaron incremento en el índice gonádico, sin diferencias significativas entre los niveles de inclusión. Sin embargo, se observó que las dietas con mayor cantidad de proteína resultaron en generar mayores pesos e índices gonadales, mientras que las dietas con mayor cantidad de carbohidratos generaron las gónadas con mejor calidad. Con base en los mejores resultados obtenidos de la evaluación de la razón de proteína/ carbohidrato, se prosiguió a seleccionar los niveles de proteínas y carbohidratos que fueron empleados para las dietas del segundo experimento. En el experimento 2, se observó que una dieta con un nivel de proteína intermedio 23% y un nivel altos de carbohidratos 50% fue la que mejor generó una combinación de crecimiento y calidad gonadal. Por su parte, incrementos en los niveles de aceite de pescado y/o el suplemento con lecitina de soya no resultaron con diferencias significativas en el crecimiento gonadal. Los resultados obtenidos de este estudio indican que 1) el índice gonadal de S. purpuratus no cambia significativamente por efecto del nivel de inclusión de los macronutrientes en la dieta pero su calidad gonadal disminuye cuando los niveles de proteína en dieta son altos (>23%); 2) la calidad gonadal es mejor cuando los organismos se alimentan con un nivel de carbohidratos alto en la dieta(50%); 3) la inclusión de aceite de pescado y/o lecitina de soya no generó un efecto significativo en el crecimiento de las gónadas de S. purpuratus, pero sí se observó un efecto favorable en la tasa de conversión de alimento a gónada, la tasa de eficiencia de la proteína a gónada y en la coloración de las gónadas y 4) la composición proximal de la dieta y el estadio de desarrollo del organismo interfieren en la composición bioquímica de las gónadas.

Palabras clave: erizo morado, alimento formulado, índice gonadal y calidad gonadal.

Abstract of the thesis presented **by Diana Maria Cuesta Gomez** as a partial requirement to obtain the Doctor of Science degree in Aquaculture.

Evaluation of the level of macronutrients in formulated diets for the purple sea urchin Strongylocentrotus purpuratus and its effects on gonadal index and gonadal quality

Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra
Thesis Director

Understanding the effects of nutrients in formulated diets for S. purpuratus, in particular the levels of protein, carbohydrate and lipid, will contribute to the development of an adequate sea urchin diet. Adult sea urchins were fed in three independent experiments, with formulated diets evaluating the effect of nutrient in gonad increase and gonadal quality. The first experiment evaluated different protein / carbohydrate ratios; the second, evaluated different inclusion of proteins and carbohydrates and the third, evaluated different levels and sources of lipids. Attempting to determine the optimum level and combination of these macronutrients, response variables were: weight gain, gonad index increase, the best gonad quality (color, firmness, texture and taste), biochemical composition of the gonadal tissue and the reproductive stage of the organisms. All experimental diets resulted in sea urchins increase in gonad index, with no significant differences among macronutrient levels evaluated. However, diets with a higher amount of carbohydrates led to better quality of the gonads. The protein and carbohydrate levels used for the second experiment were selected based on the best results obtained from the protein/carbohydrate ratio experiment. In the second experiment, a diet with intermediate protein levels (23%) and high carbohydrate levels (50%) generated the best combination of both gonad growth and gonad quality. On the other hand, increasing levels of fish oil inclusion and the supplementation with soy lecithin in the diets did not result in significant differences in the gonadal growth. Results obtained under the conditions of this study indicate that: 1) gonad index of S. purpuratus does not change significantly by the effect of the level and combination of macronutrients included, but gonad quality decreases with higher amounts of protein in the diet (>23%); 2) gonad quality is higher when sea urchins are fed a diet with high level of carbohydrates (50%); 3) fish oil and soy lecithin inclusion in diets did not generate any significant growth effect on the gonads of S. purpuratus, but did cause a positive effect in feed conversion rate, protein efficiency ratio and gonad coloration; and lastly 4) nutrient composition of the diets and reproductive stage of the organisms interact to generate effects on the gonad biochemical composition of the sea urchins.

**Keywords:** purple sea urchin, formulated feed, gonad index, gonad quality.

### **Dedicatoria**

A mis papás Elena y Roberto, a mis hermanas Mari y Luli, y a Colton por su apoyo y porque a pesar de la distancia están siempre presentes, a Juan mi compañía incondicional, por tu paciencia y por impulsarme a no rendirme y a continuar superando mis obstáculos

#### **Agradecimientos**

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y en particular al Departamento de Acuicultura por haberme aceptado en su programa y haberme brindado el apoyo necesario para la realización de mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca de Doctorado otorgada durante estos cuatro años, además de un complemento económico (beca mixta) durante mi estancia en Maine.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico para la realización de esta tesis a través del proyecto (SEP-CONACyT proyecto 45844) y al CICESE por el apoyo económico del proyecto con cuenta 623108.

A la Dirección de Estudios de Posgrado del CICESE y al Posgrado del Departamento de Acuicultura, por otorgarme dos meses de beca para la terminación de la tesis de doctorado.

Al Departamento de Acuicultura, por su respaldo académico durante estos cuatros y su apoyo económico otorgado para la asistencia a dos congresos internacionales y una estancia académica en el extranjero.

Un caluroso agradecimiento a la Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra, por recibirme como su estudiante de doctorado, por abrirse a estudiar cosas nuevas, por sus contribuciones académicas y sobre todo por su apoyo incondicional en el proceso de este trabajo de grado. Muchas gracias Dra.

Muchas gracias a los miembros del comité de tesis,

Al Dr. Julio Palleiro Nayar, por su colaboración en la primera etapa de ese trabajo, y su colaboración en la captura de los primeros organismos. A la Dra. María Teresa Viana Castrillón, por su colaboración con algunos de los ingredientes para la elaboración de las dietas y por sus valiosas observaciones en este trabajo, gracias por todos los momentos en los que busque su ayuda y siempre estuvo su puerta abierta, Muchas gracias Dra. Al Dr. Juan Pablo Lazo Corvera, infinitas gracias por su tiempo, amabilidad y generosidad. Le agradezco mucho por todas las observaciones a este trabajo, por su colaboración en la formulación de las dietas de este estudio, por brindarme ideas nuevas, pero sobre todo por abrirme las

puertas de su oficina cuando lo necesite y dejarme utilizar su laboratorio como si fuera mío, Muchas gracias Dr.

Agradezco de manera muy cordial a,

M. en C. Roger Frías Díaz y Oc. Augusto Bárcenas y a los amigos pescadores que nos apoyaron con la extracción de los erizos en la Bahía de Ensenada de Todos Santos, durante la primera etapa de este estudio (2014). Muchas gracias.

A la empresa PIVEG, por haber donado los pigmentos para la elaboración de las dietas.

A la empresa DSM nutrition, por haber donado el abanico de color, con el que se realizaron las pruebas de colorimetría.

Al Dr. Miguel Ángel del Río Portilla, por su colaboración con los diagramas del sistema experimental, y por las numerosas veces que atendió amablemente mis consultas. Muchas gracias Dr.

A la Dra. Fabiola Lafarga, la Dra. Ceres Anabel Molina Cárdenas, el Dr. Juan Pablo Lazo, la MSc. Raquel Escuredo Bielva, por su colaboración con la degustación de las gónadas.

A Pablo Fuentes Quesada por su colaboración con la captura de los organismos del último experimento.

A Juan Carlos Zarama por su colaboración con el sistema de enfriamiento, con el secado de las algas y con la extracción de los erizos de los dos últimos experimentos.

A los técnicos del CICESE,

Un especial agradecimiento al Biólogo Norberto Flores, del Departamento de Acuicultura por su colaboración en la modificación del sistema de alimentación de los erizos.

Al Dr. Jorge Cáceres Martínez por dar las facilidades para realizar las láminillas histológicas en su laboratorio y a Yanet Guerrero el Departamento de Acuicultura por su colaboración con la elaboración de las láminas histológicas de los erizos.

A Abelardo Campos Espinoza, del Departamento de Acuicultura por su colaboración con el mantenimiento de los erizos (Febrero-Marzo de 2016) y su asistencia con el HPLC con las muestras de aminoácidos durante los meses de Mayo-Julio de 2016.

A Axel Iram Rosas Campos, del Departamento de Oceanología, por su colaboración con los arreglos del equipo HPLC.

A Hector Guillermo González López del Departamento de Microbiología por su ayuda con el liofilizador.

I would like to thank to Dr. Steve Eddy, for the time, knowledge and wonderful east coast rides I received during my visit at the Center for Cooperative and Aquaculture Research of the University of Maine at Franklin. Thanks to all anglers at Rockland for showing me the capture of the lobsters and sea urchins from Maine. Thanks to Takashi Matsumoto at the city of Portland for letting me learn about the gonad processing and classification. Special thanks to Dr. Katherine Davis for the support with gonad quality measurements, to Dr. Denise Skonberg for letting me attend to the food and product development class at the University of Maine at Orono. Special thanks to Chris, Dotty and Josh for the wonderful meals we had, and to all the CCAR team for teaching me and given me a warm stay at Maine. Special thanks to M.Sc. Luz Mary Kogson, for all the aquaculture guidance and lunch talks, gracias Luz.

A mis compañeros del laboratorio de microalgas, Ceres, Soco, Ruperto, Duahmet, Anita, Karina, Laura, Caro y Fátima, gracias por las comidas que compartimos, todos los cumpleaños celebrados y por los momentos en los que me acompañaron durante estos cuatro años, gracias chicos.

A mis compañeros de doctorado,

Ceres, muchísimas gracias por todo tu tiempo invertido en ayudarme con mis muestras. Siempre estuviste ahí colaborándome y escuchando cuando lo necesite. De ti sigo aprendiendo a ser paciente y a llevar las cosas con calma, muchas gracias.

A Raquel y Pablo que en este último año fueron de gran compañía y me abrieron las puertas de su casa para pasar momentos agradables, gracias chicos.

Soco, muchas gracias por los momentos que estuviste ahí para escucharme, por el tiempo que pasamos en el lab, hiciste todo ese proceso más ameno, gracias.

Tere, muchas gracias por estar ahí, este doctorado lo sufrimos juntas, pero la pasamos a gusto. Espero que continuemos con esta amistad, te aprecio mucho.

A Juan por tu colaboración, por tu ayuda interminable los fines de semana, pero sobre todo por estar a mi lado y darme la mano para seguir adelante.

## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español	ii
Resumen en inglés	iii
Agradecimientos	V
Tabla de contenido	viii
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tablas	xxii
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Biología general de Strongylocentrotus purpuratus	6
1.2 Nivel óptimo de inclusión de los macronutrientes en dietas para el erizo de mar	9
1.2.1 Proteínas	12
1.2.2 Carbohidratos	13
1.2.3 Lípidos	14
1.3 Procesamiento y estándares de calidad de las gónadas de erizo para su comercialización	15
1.4 Hipótesis	19
1.5 Objetivo General	19
1.5.1 Objetivos Particulares	19
Capítulo 2. Metodología	20
2.1 Colecta del erizo morado Strongylocentrotus purpuratus	20
2.2 Sistema experimental para los experimentos de alimentación	21
2.2.1 Condiciones de cultivo	21
2.3 Variables de respuesta	24
2.3.1 Supervivencia	24
2.3.2 Crecimiento	25
2.3.3 Consumo	25
2.3.4 Calidad gonadal	27
2.3.5 Evaluación de los estadios reproductivos de <i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	29
2.3.6 Evaluación de la composición bioquímica de las gónadas y las dietas	31
2.3.6.1 Análisis proximal	31
2.3.6.2 Ácidos grasos	32

2.3.6.3 Aminoácidos	.32
2.4 Formulación y elaboración de las dietas experimentales	.33
2.4.1 Evaluación del uso de dietas con diferentes niveles de inclusión de proteínas y carbohidratos:	
(Exp.1)	.33
2.4.2 Evaluación del efecto de tres niveles de proteína (30, 23 y 17%) y dos niveles de carbohidratos	
(42 y 50%): (Exp. 2)	36
2.4.3 Evaluación del efecto de dos niveles de aceite de pescado (0 y 3%) y tres niveles de lecitina de	
soya (0, 2 y 4%): (Exp. 3)	.38
2.5 Análisis estadístico	.38
Capítulo 3. Resultados	
3.1 Evaluación del uso de dietas con diferentes niveles de inclusión de proteínas y carbohidratos: (Exp	
1)	
3.1.1 Supervivencia	
3.1.2 Crecimiento	.41
3.1.2.1 Diámetro de la testa	
3.1.2.2 Peso total	
3.1.2.3 Peso húmedo de las gónadas e índice gonadal (IG)	.42
3.1.3 Consumo	.45
3.1.3.1 Tasa de consumo diario (TCD) y tasa de conversión alimenticia a peso gonadal (TCAG)	
3.1.3.2 Tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG)	.45
3.1.3.3 Porcentaje del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y porcentaje del coeficiente de	
digestibilidad aparente de la proteína (CDAP)	.46
3.1.4 Calidad gonadal	.46
3.1.4.1 Textura (escala 1-4)	.46
3.1.4.2 Firmeza (escala 1-4)	.47
3.1.4.3 Sabor (escala 1-5)	.48
3.1.4.4 Color (escala 1-4)	.50
3.1.4.5 CIE $L^*a^*b^*$ y diferencia de color total $\Delta E_{00}$	.50
3.1.5 Composición bioquímica de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	.54
3.1.5.1 Análisis proximal de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	.54
3.1.5.2 Contenido de ácidos grasos de las gónadas de S. purpuratus	.54
3.1.5.3 Contenido de aminoácidos totales de las gónadas de S. purpuratus	.59
3.1.6 Condición reproductiva de <i>S. purpuratus</i>	59

50%): (	Exp. 2)	62
3.2.1 Su	pervivencia	62
3.2.2 Cre	ecimiento	62
3.2.2.1	Diámetro de la testa	62
3.2.2.2	Peso total	63
3.2.2.3	Peso húmedo de las gónadas e índice gonadal (IG)	63
3.2.3 Co	nsumo	63
3.2.3.1	Tasa de consumo diario (TCD) y tasa de conversión alimenticia a peso gonadal (TCAG)	63
3.2.3.2	Tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG)	66
3.2.3.3	Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y coeficiente de digestibilidad aparente de	la
	proteína (CDAP)	66
3.2.4 Ca	idad gonadal	66
3.2.4.1	Textura (escala 1-4)	66
3.2.4.2	Firmeza (escala 1-4)	67
3.2.4.3	Sabor (escala 1-5)	69
3.2.4.4	Color (escala 1-4)	69
3.2.4.5	CIE $L^*a^*b^*$ y diferencia de color total $\Delta E_{oo}$	69
<i>3.2.5</i> Co	mposición bioquímica de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	<b>7</b> 3
3.2.5.1	Análisis proximales de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	<b>7</b> 3
3.2.5.2	Contenido de ácidos grasos de las gónadas de S. purpuratus	74
3.2.5.3	Contenido de aminoácidos totales de las gónadas de S. purpuratus	78
3.2.6 Co	ndición reproductiva de S. purpuratus	78
3.3 Evaluad	ción del efecto de dos niveles de aceite de pescado (0 y 3%) y tres niveles de lecitina de sc	ya
(0, 2 y 4	1%): (Exp. 3)	82
3.3.1 Su	pervivencia	82
3.3.2 Cre	ecimiento	82
3.3.2.1	Diámetro de la testa	82
3.3.2.2	Peso total	82
3.3.2.3	Peso húmedo de las gónadas e índice gonadal (IG)	83
3.3.3 Co	nsumo	84
3.3.3.1	Tasa de consumo diario (TCD) y tasa de conversión alimenticia a peso gonadal (TCAG)	84
3.3.3.2	Tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG)	84

3.3.3.3 Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y coeficiente de digestibilidad aparente de	a
proteína (CDAP).	86
3.3.4 Calidad gonadal	86
3.3.4.1 Textura (escala 1-4)	86
3.3.4.2 Firmeza (escala 1-4)	87
3.3.4.3 Sabor (escala 1-5)	87
3.3.4.4 Color (escala 1-4)	89
3.3.4.5 CIE $L^*$ $a^*$ $b^*$ y diferencia de color total $\Delta E_{00}$	89
3.3.5 Composición bioquímica de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	92
3.3.5.1 Análisis proximal de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	92
3.3.5.2 Contenido de ácidos grasos de las gónadas de S. purpuratus	93
3.3.5.3 Contenido de aminoácidos totales de las gónadas de S. purpuratus	95
3.3.6 Condición reproductiva de <i>S. purpuratus</i>	95
	404
Capítulo 4. Discusión	
4.1.1 Supervivencia	
4.1.2 Crecimiento	
4.1.2.1. Diámetro de la testa y peso total	
4.1.2.2. Peso de las gónadas e índice gonadal	
4.1.3 Consumo de alimento	
4.1.3.1. Tasa de consumo diaria	
4.1.3.2. Tasa de conversión del alimento a gónada	
4.1.3.3. Tasa de eficiencia proteica a gónada	
4.1.3.4. Coeficiente de digestibilidad aparente	
4.1.3.5. Coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína	
4.1.4 Calidad gonadal	
4.1.4.1. Textura de las gónadas	
4.1.4.2. Firmeza de las gónadas	
4.1.4.3. Sabor de las gónadas	
4.1.4.4. Color de las gónadas	
4.1.5 Composición bioquímica de las gónadas de <i>S. purpuratus</i>	
4.1.5.1. Cantidad de proteínas en gónada	
4.1.5.2. Cantidad de ELN en gónada	
1 1 5 3 Cantidad de línidos en gónada	127

4.1.5.4. Cantidad de cenizas en gónada	128
4.1.5.5. Cantidad de ácidos grasos en gónada	129
4.1.5.6. Cantidad de aminoácidos en gónada	133
4.1.6 Condición reproductiva	136
Conclusiones	139
Recomendaciones	142
Literatura citada	143
Anexos	163

# Lista de Figuras

Figura		Página
1	El erizo morado, <i>Strongylocentrotus purpuratus</i> , disección vertical. (Tomada por: Cuesta-Gomez, 2012)	3
2	Estructura interna del erizo regular (Tomada de: DOF, 2012 el 25 de Marzo 2013)	7
3	Proceso de extracción de gónada de erizo de mar. A. apertura a la mitad de la testa del erizo de mar; B. Primera clasificación por color; C. primer enjuague para quitar restos de erizo; D. segundo enjuague de las gónadas. Planta procesadora ISF Trading. Inc. Portland, ME. Tomada por Cuesta-Gomez (2016)	17
4	Proceso de extracción de gónada de erizo de mar. Se puede observar la piscina con las solución de aluminio, adentro se encuentran las charolas con gónadas (Izq.). Columnas de charolas drenando el agua de la solución de aluminio (Der.). Planta procesadora ISF Trading. Inc. Portland, ME. Tomada por Cuesta-Gomez (2016)	17
5	Proceso de empaque y clasificación de las gónadas. A. empaque en charola de unicel. B. empaque en charola de madera. C. D. y E. clasificación por color al finalizar la jornada. Planta procesadora ISF Trading. Inc. Portland, ME. Tomada por Cuesta-Gomez (2016)	18
6	Distribución de erizo por zonas de pesca en Baja California (Palleiro-Nayar, 2004). (Tomada de Google Earth, 2017 y modificada)	20
7	Descripción del sistema experimental utilizado para el mantenimiento de erizos. A) Tanques circulares de 200 L. B) Biofiltro de 56.6 L. C) Lámpara UV. D) Tanque de compensación de 3 t. E) Dos enfriadores en serie de ¼ Hp. F) Un enfriador de 1 Hp. G) Canastilla plástica para mantenimiento de los erizos y piedra difusora	22
8	Cambios histológicos en las gónadas del erizo morado <i>S. purpuratus</i> durante la gametogénesis. Hembras (fila superior) y machos (fila inferior). Tinción Hematoxilina-Eosina. Estadio I: Antes de la gametogénesis (40x, 50 μm); Estadio II: Inicio de la gametogénesis (10x; 200 μm); Estadio IV: Final de la gametogénesis (10x; 200 μm); Estadio V: Desovado (10x; 200 μm). fn = Fagocito nutritivo, or = huevo remanente, re = espermatozoide residual, Oc = Ovocito, Ov = Ovulo, eg = espermatogonia, Ez = Espermatozoide, CG= células germinales. Identificación de acuerdo con Unuma y Walker (2009)	30
9	Crecimiento de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> al inicio, luego de haber sido alimentado con la dieta proteína media – carbohidrato medio en la semana 6 y 9, y ejemplar colectado del medio natural en la semana 9. Se observa el crecimiento gonadal con la alimentación formulada.	43

10	experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — M. pyrifera. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. El asterisco indica la diferencia significativa. α = 0.05	43
11	Índice gonadal (% ± DE) de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA–CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA–CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM–CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB–CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB–CA = proteína baja - carbohidrato alto y — M. pyrifera. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. El asterisco indica la diferencia significativa. α = 0.05	44
12	Escala de textura gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CMA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CMA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CMA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína media baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína media baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato y — PMB-CA = proteína baja - carbohidrato y —	47
13	Ejemplares de gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las distintas dietas en la semana 9. Se logra observar la diferenciación de las mitades de cada gónada y su firmeza, excepto por la dieta PMB-CMA (menor diferenciación y menos firmeza). En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto	48
14	Escala de firmeza gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA–CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA–CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM–CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB–CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB–CA = proteína baja - carbohidrato alto y — M. pyrifera. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05	49
15	Escala de sabor de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: ——— medio natural; ———— PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; ————————————————————————————————————	

	CM = proteína media - carbohidrato medio;  PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto;  PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto <i>y</i> M. pyrifera. ANOVA de una vía, seguido por la <i>prueba de</i> Fisher. Las letras indican las diferencias significativas de inicial vs. semana 6 (A > B). α = 0.05	50
16	Escala de color gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y <i>M. pyrifera</i> . ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05	51
17	Valores de luminosidad <i>L*</i> en las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y <i>M. pyrifera</i> . ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. <i>α</i> = 0.05	51
18	Valores de matiz a* en las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y <i>M. pyrifera</i> . ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05	52
19	Valores de croma <i>b*</i> en las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y <i>M.</i> pyrifera. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. <i>α</i> = 0.05	52
20	Diferencia de color total ΔΕΟΟ Amarillo (carta 8) en las gónadas de S. purpuratus alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: medio natural; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y M. pyrifera. ANOVA	

	de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. $\alpha$ = 0.05	53
21	Diferencia de color total ΔΕΟΟ Amarillo-anaranjado (carta 12) en las gónadas de S. purpuratus alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — M. pyrifera. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05	53
22	Condición reproductiva (%) y cantidad de machos y hembras de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales a la novena semana de alimentación. En donde: Estadio I; Estadio II; Estadio V; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. Oganismos alimentados con <i>M. pyrifera</i> y organismos provenientes del medio natural	61
23	Peso de las gónadas (g ±DE) <i>de S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde:  [Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05	64
24	Índice gonadal (% ± DE) de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde:  """ Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6, letras minúsculas entre inicial vs. semana 9. α = 0.05	64
25	Crecimiento de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> al inicio, luego de haber sido alimentado con la dieta PA-CB (proteína alta – carbohidrato bajo) en la semana 6, PA-CA (proteína alta – carbohidrato alto) en la semana 9 y PM-CA (proteína media – carbohidrato alto) en la semana 12. Se observa el crecimiento gonadal con la alimentación formulada	65
26	Escala de textura gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media -	

	carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6, el asterisco indica la diferencia significativa entre inicial vs semana 9 y 12. α = 0.05	67
27	Escala de firmeza gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (a > b) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6; las letras (x > y) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 9; las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05	68
28	Escala de sabor de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.	68
29	Escala de color gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 9. Las letras (a > b) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05	70
30	Valores de luminosidad <i>L*</i> gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  [IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIII	70
31	Valores de matiz a* gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo;  PA-CA =	

	proteína alta - carbohidrato alto; ————————————————————————————————————	71
32	Valores de croma <i>b*</i> gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:      PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo;   PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto;   PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo;   PM-CA = proteína media - carbohidrato alto;   PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo;   PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6 las letras (a > b > c) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05	72
33	Diferencia de color total ΔΕΟΟ Amarillo (carta 8) en las gónadas de S. purpuratus alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo;  PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto;  PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo;  PM-CA = proteína media - carbohidrato alto;  PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo;  PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05	72
34	Diferencia de color total $\Delta E00$ Amarillo-anaranjado (carta 12) en las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. $\alpha$ = 0.05	73
35	Condición reproductiva (%) y cantidad de machos y hembras <i>de S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales al inicio y sexta semana (A), novena (B) y doceava semana de alimentación (C). En donde PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto y PB-CB = proteína baja — carbohidrato bajo; PB-CA= proteína baja - carbohidrato alto.	81
36	Peso de las gónadas (g ± DE) de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde:  """ Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya;  AA-SL = alto aceite de pescado – sin	

	lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado- baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado — alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. $\alpha = 0.05$	83
37	Índice gonadal (% ± DE) de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde:  """ Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya;  AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05	84
38	Crecimiento de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> al inicio, luego de haber sido alimentado con la dieta BA-AL (bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya) en la semana 6, AA-AL (alto aceite de pescado – alta lecitina de soya) en la semana 6, AA-AL (alto aceite de pescado – alta lecitina de soya) semana 12 y AA-SL (alto aceite de pescado – sin lecitina de soya) semana 12. Se observa el crecimiento gonadal con la alimentación formulada	85
39	Escala de textura gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En dónde:  [Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado- sin lecitina de soya;  [BA-BL = bajo aceite de pescado- baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado-alta lecitina de soya;  [BA-BL = alto aceite de pescado- baja lecitina de soya;  [BA-AL = alto aceite de pescado- baja lecitina de soya;  [BA-AL = alto aceite de pescado- alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre el inicial vs. semana 6. El asterisco indica las diferencias del inicial vs. semana 12. α = 0.05	87
40	Escala de firmeza gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  """ Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya;  AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre el inicial vs. semana 12. α = 0.05.	88
41	Escala de sabor delas gónadas de S. <i>purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya;  BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas q = 0.05	90

42	Escala de color gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial;  BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya;  BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya;  AA-BL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-BL = alto aceite de pescado – baja lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre el inicial vs. semana 12. α = 0.05.	89
43	Valores de luminosidad <i>L*</i> gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  ZIZZZ Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya;  AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05	90
44	Valores de matiz a* gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde:  Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya;  BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya;  AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05	90
45	Valores de croma <i>b</i> * gonadal de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicia; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05.	91
46	Diferencia de color total ΔΕΟΟ Amarillo (carta 8) en las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado –alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – baja lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05	91

47	Diferencia de color total $\Delta E_{00}$ Amarillo-anaranjado (carta 12) en las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado — sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado — baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado — alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado — sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado — baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado — alta lecitina de soya. ANOVA de una vía. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. $\alpha$ = 0.05	92
48	Condición reproductiva (%) de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales al inicio y sexta semana (A), y doceava semana de alimentación (B). En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya.	100
49	Regresión lineal de las observaciones de los valores CIE <i>L*a*b*</i> obtenidos del colorímetro HunterLab Scan XE y del colorímetro NR100, se muestra el coeficiente de determinación R2 de cada coordenada	164

## Lista de Tablas

Tabla		Página
1	Especies de erizo de importancia comercial. Producción total en toneladas (t) por pesquería por país y especies en orden descendente de producción en 1998 y 1995 (pico de la producción mundial). Tomado de Andrew <i>et al.</i> (2002)	2
2	Posición sistemática del erizo morado. Tomado de Kroh (2013)	8
3	Escala de criterios para evaluar la calidad gonadal de <i>Strongylocentrotus</i> purpuratus (Pearce et al., 2002a)	28
4	Estadios del desarrollo gonádico del erizo de mar. Descrito por Unuma y Walker (2009)	29
5	Porcentaje de inclusión de los ingredientes y composición proximal (% ± DE) de las dietas, basado en 100-g de muestra seca. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto	35
6	Composición proximal (% ± DE) y contenido de energía (Kcal) de las dietas experimentales del primer ensayo basada en una cantidad de 100 gr de peso seco. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto	36
7	Porcentaje de inclusión de los ingredientes y composición proximal (% ± DE) de las dietas, basado en 100 g de muestra seca. En dónde: Proteína alta - carbohidrato bajo (PA-CB); proteína alta - carbohidrato alto (PA-CA); proteína media - carbohidrato bajo (PM-CB); proteína media - carbohidrato alto (PM-CA); proteína baja - carbohidrato bajo (PB-CB); proteína baja - carbohidrato alto (PB-CA)	37
8	Porcentaje de inclusión de los ingredientes y composición proximal (% ± DE) de las dietas, basado en 100-g de muestra seca. En dónde: Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya (BA-SL); bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya (BA-BL); bajo aceite de pescado - alta lecitina de soya (BA-AL); alto aceite de pescado - sin lecitina de soya (AA-SL); alto aceite de pescado - baja lecitina de soya (AA-BL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-AL)	40
9	Promedio ± DE, de la supervivencia (%), diámetro de la testa (mm) y peso total (g) de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 9. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. α	

	= 0.05	41
10	Tasa de consumo diario (TCD) (g alimento consumido org-1 día-1), tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG) (g alimento consumido g incremento gonadal), tasa de eficiencia proteica (TEPG) (g incremento gonadal g de proteína consumida), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA%), y coeficiente de digestibilidad de la proteína (CDAP%) en <i>S. purpuratus</i> alimentado con cinco dietas distintas durante un periodo de nueve semanas	45
11	Composición proximal (g de nutriente por cada 100 g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales y <i>M. pyrifera</i> a la sexta y novena semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB – CA = proteína baja - carbohidrato alto	56
12	Contenido de ácidos grasos (Ag) (mg Ag por cada g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales al inicio y novena semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto	57-58
13	Contenido de aminoácidos (mg AA por g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales al inicio y novena semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto	60
14	Promedio $\pm$ DE, de la supervivencia (%), diámetro de la testa (mm) y peso total (g) de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 12. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. En dónde: Proteína alta - carbohidrato bajo (PA-CB); proteína alta - carbohidrato alto (PA-CA); proteína media - carbohidrato bajo (PM-CB); proteína media - carbohidrato alto (PM-CA); proteína baja - carbohidrato bajo (PB-CB); proteína baja - carbohidrato alto (PB-CA). $\alpha$ = 0.05	62
15	Tasa de consumo diario (TCD) (g alimento consumido org <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> ), tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG) (g alimento consumido g incremento gonadal), tasa de eficiencia proteica (TEPG) (g incremento gonadal g de proteína consumida), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA %), y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP%) en <i>S. purpuratus</i> alimentado con seis dietas distintas durante un periodo de 12 semanas	66
16	Composición proximal (g de nutriente por cada 100 g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales, al inicio, sexta, novena y doceava semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína	

	alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas. $\alpha$ = 0.05	75
17	Contenido de ácidos grasos (Ag) (mg Ag por cada g de gónada seca) de las gónadas de <i>S.</i> purpuratus alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA= proteína baja - carbohidrato alto	76-77
18	Contenido de aminoácidos (mg AA por g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA= proteína baja - carbohidrato alto	80
19	Promedio $\pm$ DE, de la supervivencia (%), diámetro de la testa (mm) y peso total (g) de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 12. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. En dónde: Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya (BA-SL); bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya (BA-BL); bajo aceite de pescado - alta lecitina de soya (BA-AL); alto aceite de pescado - sin lecitina de soya (AA-SL); alto aceite de pescado - baja lecitina de soya (AA-BL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-AL).Las letras indican las diferencias significativas. $\alpha$ = 0.05	82
20	Tasa de consumo diario (TCD) (g alimento consumido org-1 día-1), tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG) (g alimento consumido g incremento gonadal), tasa de eficiencia proteica (TEPG) (g incremento gonadal g de proteína consumida), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA%), y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP%) en <i>S. purpuratus</i> alimentado con seis dietas distintas durante un periodo de 12 semanas	86
21	Composición proximal (g de nutriente por cada 100 g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales, al inicio, sexta y doceava semana de alimentación. En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado –alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado - baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya	94
22	Contenido de ácidos grasos (Ag) (mg Ag por cada g de gónada seca) de las gónadas <i>de S</i> . purpuratus alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – baja lecitina de soya; AA-BL	

	soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya	97-98
23	Composición de aminoácidos (mg AA por g de gónada seca) de las gónadas de <i>S. purpuratus</i> alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado - baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya	99
24	Porcentaje de recuperación de las dietas de los tres ensayos experimentales	163
25	Valores CIE $L^*$ $a^*$ $b^*$ obtenidos del colorímetro HunterLab Scan XE y del colorímetro NR100, se muestra la diferencia en ambas observaciones $\Delta E00$	164
26	Curva de calibración de cada aminoácido del estándar de 1000 pico mol $\mu L^{-1}$ de Agilent Technologies	165
27	Cantidad (prom ± DE) de mg de Ag por 100 g de dieta seca en las dietas del Exp.  1. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto	166
28	Cantidad (prom ± DE) de mg de Ag por 100 g de dieta seca en las dietas del Exp.2. En dónde: Proteína alta - carbohidrato bajo (PA-CB); proteína alta - carbohidrato alto (PA-CA); proteína media - carbohidrato bajo (PM-CB); proteína media - carbohidrato alto (PM-CA); proteína baja - carbohidrato bajo (PB-CB); proteína baja - carbohidrato alto (PB-CA)	167
29	Cantidad (prom ± DE) de mg de Ag por 100 g de dieta seca en las dietas del Exp.3. En dónde: Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya (BA-SL); bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya (BA-BL); bajo aceite de pescado - alta lecitina de soya (BA-AL); alto aceite de pescado - sin lecitina de soya (AA-SL); alto aceite de pescado - baja lecitina de soya (AA-BL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-AL).	167
30	Escala de calificación para cada variable de acuerdo a su estadística obtenida del ANOVA de una vía	169
31	Puntuación de las variables analizadas en cada una de las dietas experimentales del primer ensayo y su valor de importancia atribuida (Imp.)	169
32	Puntuación de las variables analizadas en cada una de las dietas experimentales del segundo ensayo. y su valor de importancia atribuida (Imp.)	170
33	Puntuación de las variables analizadas en cada una de las dietas experimentales del tercer ensayo. y su valor de importancia atribuida (Imp.)	170

34	Correlación de las dietas del Exp.1. Razón de proteína/ carbohidrato vs. los atributos gonadales a la semana 9 de alimentación. Se indica el valor de R; $\alpha$ = 0.05	171
35	Correlación de la inclusión de proteína en las dietas del Exp.2 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R; $\alpha$ = 0.05	171
36	Correlación de la inclusión de carbohidrato en las dietas del Exp.2 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R; $\alpha$ = 0.05	172
37	Correlación de la inclusión de aceite de pescado en las dietas del Exp.3 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R; $\alpha$ = 0.05	172
38	Correlación de la inclusión de lecitina de soya en las dietas del Exp.3 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R; $\alpha$ = 0.05	173

### Capítulo 1. Introducción

La mayoría de las pesquerías de erizo de mar en el mundo se encuentran en regiones templadas y se concentran en algunos pocos géneros de este grupo de organismos (Tabla 1). El producto de esta pesquería son las gónadas de ambos sexos, conocidas en diferentes partes del mundo como "roe" o "uni" (Pearce *et al.*, 2002a; 2002b; Robinson *et al.*, 2002; Agatsuma *et al.*, 2005) (Figura 1). Las pesquerías comerciales están ahora enfocadas en el mercado Japonés, el cual consume la mayor cantidad de este producto (Keesing y Hall, 1998; Andrew *et al.*, 2002; Agatsuma *et al.*, 2010). Hasta 1984, Japón tenía la pesquería más productiva de gónada de erizo, principalmente de especies como *Strongylocentrotus intermedius* y *S. nudus*. En la actualidad, Chile es el mayor productor de gónada de erizo proveniente de la actividad pesquera de la especie *Loxechinus albus* (Andrew *et al.*, 2002).

Keesing y Hall (1998) mencionan que los reportes pesqueros no explican con certeza cuales fueron las causas del declive de la pesquería del erizo en Japón. Al parecer fue la combinación de factores como la sobrepesca, la disminución en el reclutamiento y el deterioro del hábitat. Para 1996, este país ya importaba aproximadamente 6,200 toneladas de erizo. Krause (2006) menciona que Japón realiza la importación de gónadas de erizo fresco y congelado, procedentes de países como Chile, Estados Unidos, Canadá, China, Norte de Corea, México, Perú y el Sur de Corea, en orden de importancia.

Las especies de erizo que México exporta al continente asiático son: *Mesocentrotus franciscanus* (erizo rojo) y *S. purpuratus* (erizo morado) (Solís-Marín *et al.*, 2013). Las cuales son procedentes del estado de Baja California (B.C.) y constituyen uno de los ocho productos con alto valor comercial para el estado (SEPESCA, 2010). En los últimos 30 años, la exportación de gónada de erizo ha generado ingresos monetarios significativos para el estado de Baja California (Palleiro-Nayar *et al.*, 1996; Solís-Marín *et al.*, 2013). De acuerdo con Palleiro-Nayar *et al.* (2007) se estima que la comercialización de gónadas de erizo en México, generó aproximadamente, dos millones de dólares (aprox. 2,000 toneladas) por temporada anual (Julio-Febrero), y considerando solo la producción de las plantas de procesamiento que operan en Ensenada, San Quintín y El Rosario en B. C.

La pesquería de erizo en Baja California se inició con la extracción del erizo rojo *M. franciscanus*. En 1987, se estableció la primera reglamentación de talla mínima legal (80 mm diámetro de testa) y los periodos de veda (Marzo-Junio) para la pesquería de este erizo (Palleiro-Nayar *et al.*, 1988). A partir de 1993 se da inicio a la captura de *S. purpuratus* por recomendación de investigadores del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras (CRIP) de Ensenada (Palleiro-Nayar, 2004).

Tabla 1. Especies de erizo de importancia comercial. Producción total en toneladas (t) por pesquería por país y especies en orden descendente de producción en 1998 y 1995 (pico de la producción mundial). Tomado de Andrew *et al.* (2002).

País/ pesquería	Especies	1998 Producción (t.)	1995 Producción (t.)	Pico de producción (t.)	Año del Pico de producción
Chile	Loxechinus albus	44 843	54 609	54 609	1995
Japón	Todas las especies	13 653	13735	27528	1969
Maine (Estados	Strongylocentrotus	7688	16845	17821	1993
Unidos)	droebachiensis				
British Columbia	S. franciscanus	6088	6807	13499	1992
(Canadá)	S. droebachiensis	182	88	1019	1992
California (Estados Unidos)	S. franciscanus	4782	10097	23582	1988
Baja California	S. franciscanus	1429	2720	8493	1986
(México)	S. purpuratus	412	468	814	1997
New Brunswick (Canadá)	S. droebachiensis	1621	1658	1900	1996
Rusia	Todas las especies	1590	2344	6328	1986
Alaska (Estados	S. franciscanus	1419	949	2921	1997
Unidos)	S. droebachiensis	9	19	100	1988
Corea del Sur	Todas las especies	1410	3707	7751	1986
Nueva Escocia (Canadá)	S. droebachiensis	1299	1021	1325	1996
Filipinas	Tripneustes gratilla	974	584	1120	1992
Nueva Zelanda	Evechinus chloroticus	716	975	1032	1993
España	Paracentrotus lividus	558	0	595	1997
Fiyi	T. gratilla	503	894	1771	1988
Washington (Estados	S. franciscanus	228	339	4024	1988
Unidos)	S. droebachiensis	92	173	464	1988
China	Todas las especies	239	150	300	1967
Oregón (Estados Unidos)	S. franciscanus	157	701	4222	1990
Australia	Todas las especies	112	78	255	1992
Corea del Norte	Todas las especies	100	140	252	1987
Perú	L. albus	90	131	461	1996
Francia	Todas las especies	59	78	987	1970
Irlanda	P. lividus	4	10	352	1976
Islandia	S. droebachiensis	0	923	1409	1994
Taiwán	Anthocidaris crassispina	0	63	300	1967
Total	8	90257	120306		



Figura 1. El erizo morado, *Strongylocentrotus purpuratus*, disección vertical. (Tomada por: Cuesta-Gomez, 2012).

La actividad pesquera del erizo morado se propuso como alternativa comercial para limitar el crecimiento desmesurado de su población, provocado por el desbalance poblacional por la disminución del erizo rojo. La alta presión de pesca sobre el erizo rojo, es debida principalmente, al tamaño de las gónadas y el alto valor comercial que tiene este producto en el mercado. El erizo rojo, que se extrae en un 90% en relación al erizo morado, presenta gónadas de gran tamaño (entre 3 y 8 cm) y alta calidad comercial (i.e. Grado A, primera). Mientras que las gónadas del erizo morado son pequeñas (entre 2.5 y 4 cm) (Palleiro-Nayar *et al.*, 2008; Ramos-Gómez, 2009) lo que ha retardado su pesquería (Andrew *et al.*, 2002).

En 1993, se decretó la NOM-07-PESC-1993 para el erizo rojo, en la que se propone como método de extracción el buceo, con forma de entrega del producto entero y registro de la pesca diaria en bitácoras (Palleiro-Nayar *et al.*, 2012). En la NOM-07-PESC-2015, se adicionó la regularización de *S. purpuratus*, en donde se permite la captura de individuos por encima de los 45 mm de diámetro de la testa (DT). Así mismo, el porcentaje de captura de organismos por debajo de la talla mínima legal es establecido a través de las publicaciones de acuerdos en el Diario Oficial de la Federación (DOF).

El interés de compra por gónada de erizo, ha llevado a una explotación no regularizada de sus bancos naturales en distintas partes del mundo. Por lo que, en las últimas tres décadas se ha observado el desarrollo significativo del cultivo de varias especies de erizo de mar, con el fin de suplir la demanda de gónada que tiene el mercado asiático (Le Gall, 1990; Pearce *et al.*, 2002a; Cook y Kelly, 2007; Pearce y Robinson, 2010; Lawrence *et al.*, 2011; Fabbrocini *et al.*, 2012; Hammer *et al.*, 2012).

Según el DOF (2012), Baja California en el año 2005 reporta una biomasa estimada de erizo rojo, *M. franciscanus*, del 17% de la biomasa de 1988. Según los criterios del "*National Marine Fishery Service*" de Estados Unidos, cuando una pesquería se encuentra a menos del 25% de la biomasa

inicial, es catalogada como sobreexplotada en un estado deteriorado y que requiere un manejo precautorio. Por su parte, para el erizo morado, no se han establecido puntos de referencia, pero se le cataloga con posibilidades de desarrollo, con altas densidades poblacionales, que permiten incrementar su extracción. Por lo que en la actualidad especies de erizo como, *M. franciscanus* (Palleiro-Nayar *et al.*, 2008), *Paracentrotus lividus* y *Arbacia lixula* (Guidetti *et al.*, 2003) son catalogadas como sobreexplotadas por pesquerías. Mientras que otras especies como *S. purpuratus*, *Lytechinus variegatus*, *S. intermedius* y *Evechinus Chloroticus* son considerados organismos potenciales para la acuicultura (Hammer, 2006; Palleiro-Nayar *et al.*, 2008; Woods *et al.*, 2008; Azad *et al.*, 2011; Lawrence *et al.*, 2011; Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra, 2014).

Hasta el momento, en B. C. no se realiza la extracción de erizo del medio natural con fines de cultivo. En cambio, la única alternativa para conservar el recurso (i. e. *M. franciscanus*), es la realizada por El Instituto Nacional de Pesca (INAPESCA), que con el apoyo de las sociedades pesqueras de B.C. trasplantan poblaciones de *M. franciscanus* desde zonas donde no encuentran alimento (i.e. *Macrocystis pyrifera*) a otras áreas con abastecimiento abundante de macroalgas. Sitios en donde permanecen hasta que lleguen a la talla comercial (SAGARPA, 2012).

Es importante resaltar que las macroalgas que los erizos consumen en el medio natural, presentan una fluctuación anual en la composición proximal y en su abundancia. En el caso de *M. pyrifera* el contenido de proteínas depende principalmente del nitrógeno disponible en el medio en el que se encuentra, el cual está inversamente correlacionado (r² =0.7) con la temperatura del agua de mar (Hernández-Carmona *et al.*, 2001; Ladah, 2003). Por lo que en esta macroalga, se pueden tener composiciones proximales diferentes entre distintos mantos y localidades geográficas (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991). Por ejemplo, Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) encontraron que *M. pyrifera* proveniente del medio natural y mantenida durante 24 horas sin aporte de nitrógeno, la cantidad de proteínas era del 10%, mientras que al agregar un fertilizante industrial (7.8% nitrato, 7.8% amonio y 16% urea) al agua en una concentración 1M, la cantidad de proteínas en el tejido de *M. pyrifera* aumenta a 22.7%. Esta variación en la composición proximal de *M. pyrifera* pueden ocasionar en los erizos que se alimentan de estas algas, diferentes índices gonadales (Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra, 2014), ya que las gónadas actúan como órgano de reserva y dependen principalmente de la cantidad y calidad del alimento que consumen (Lawrence, 1975; Lares y McClintok, 1991).

Es por esto que desarrollar alimentos con composiciones estables y con las cantidades de inclusión óptima de proteínas, carbohidratos y lípidos son necesarios para el erizo morado en las que se obtenga crecimiento gonadal y una buena calidad de las mismas. Esto contribuirá a promover la

actividad comercial de éste organismo tal y como ha ocurrido con otras especies de erizo en condiciones de cultivo controladas (McBride *et al.*, 1998; Pearce *et al.*, 2002a; Robinson *et al.*, 2002; McBride *et al.*, 2004; Lawrence y Lawrence, 2004; Cook y Kelly, 2007; Heflin *et al.*, 2012).

Según Heflin *et al.* (2012) y Watts *et al.* (2010) afirman que el evaluar los requerimientos nutricionales de los erizos es una tarea desafiante y compleja, debido a la anatomía, fisiología, hábitos alimenticios, requerimientos de cultivo, factores bióticos (i.e. tamaño, sexo, dominancia, relaciones interespecíficas) y abióticos (i.e. temperatura, salinidad, fotoperiodo, calidad del agua) que afectan el consumo de alimento en estos organismos. En su mayoría, los estudios enfocados a investigar la nutrición de los erizos de mar, se han concentrado principalmente a la búsqueda de los requerimientos de proteínas (de Jong-Westman *et al.*, 1995; McBride *et al.*, 1998; Heflin *et al.*, 2012), carbohidratos (Hammer *et al.*, 2006a; Taylor, 2006; Heflin *et al.*, 2012), y en menor cantidad los lípidos (Castell *et al.*, 2004; Hammer, 2006; Kennedy *et al.*, 2007; González-Durán *et al.*, 2008). Mientras que los micronutrientes como algunas vitaminas y minerales (Jones *et al.*, 2005; Powell *et al.*, 2005; Kennedy *et al.*, 2007; Jones, 2011), así como los requerimientos de aminoácidos y ácidos grasos se mantiene poco explorada (Watts *et al.*, 2010).

En Baja California, varios estudios de alimentación han sido realizados en *S. purpuratus* en condiciones controladas de laboratorio. García-Chávez (2012) evalúo el efecto de la temperatura sobre la síntesis y la acumulación de ácidos grasos en organismos juveniles. Sonnenholzner *et al.* (2011) estudiaron el efecto producido por dietas de macrófitas respecto a la supervivencia y el crecimiento somático en organismos adultos-juveniles. Por su parte, Fonseca-Madrigal (2001) evalúo el efecto de dietas basadas en microalgas en el desarrollo larvario, metamorfosis y obtención de juveniles. Kim-Abreu (2001) evalúo el uso de alimento comercial formulado para otras especies de animales (e. g. pollos, perros) y dietas naturales (e. g. *M. pyrifera*, diatomeas bentónicas) sobre el desarrollo y supervivencia en erizos en etapa juvenil. Sin embargo aún no existen estudios en el que se evalúe la alimentación formulada en individuos adultos de *S. purpuratus* enfocado en el incremento en peso de las gónadas y mejoramiento de la calidad de las mismas.

Pocos son los estudios realizados en Strongylocentrotidos en etapa adulta, en los que se aborden temáticas indispensables para su cultivo y comercialización como los criterios de calidad comercial de las gónadas (color, sabor, textura y firmeza). Así como la relación que existe entre la composición bioquímica del alimento suministrado y la calidad de las gónadas de los erizos (Dale *et al.*, 2006; Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra, 2014). Azad *et al.* (2011) evaluaron dos especies de macroalgas (*M. integrifolia* y *Nereocystis luetkeana*) contra una dieta desarrollada por el "*Norwegian Institute of Fisheries and Aquaculture Research Ltd.*" (NIFA), sobre la calidad gonadal del erizo morado *S.* 

purpuratus. En donde observaron un mayor incremento en peso, color, sabor, textura y firmeza de las gónadas alimentando a los erizos con la dieta formulada. Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) investigando a *S. purpuratus* bajo condiciones de cultivo obtuvieron un incremento gonadal y calidad comercial buena (e. g. Grado A) de las gónadas, al suministrar *M. pyrifera* enriquecida con altas concentraciones de nutrientes como alimento. Sin embargo, no existe un estudio en el que se especifiquen los niveles óptimos de nutrientes en el alimento suministrado para el erizo morado en condiciones de cultivo.

Dado que la información relacionada con el cultivo para engorda de gónada en organismos adultos de *S. purpuratus* es limitado, hace necesaria la investigación que considere evaluar los niveles de (proteínas, carbohidratos y lípidos) y su influencia en la producción y la calidad comercial de las gónadas. Además, el estudio de los niveles óptimos nutricionales para la engorda de la gónada en el erizo morado ayudará al desarrollo de la acuicultura del erizo de mar en México. Esto podría proveer producto para la creciente demanda comercial de gónadas de erizo y contribuirá a evitar la sobrepesca, y permitirá que las poblaciones naturales de erizo (i. e. *M. franciscanus*) se recuperen y conserven.

#### 1.1 Biología general de Strongylocentrotus purpuratus

Los erizos de mar, son invertebrados exclusivamente marinos y representantes significativos de la fauna bentónica (Rupert y Barnes, 1996). Presentan sexos separados (dioicos) y liberan sus gametos al medio externo para que ocurra la fertilización (Levitan, 2006; Rogers-Bennett, 2007; Azad, 2011). La simetría radial de estos organismos, presenta cinco meridianos denominados ambulacros, los cuales crecen unidos creando una forma corporal de tipo globular (Marshall y Williams, 1972). Alrededor de la superficie corporal, presentan unos pies tubulares adhesivos (podios) los cuales son utilizados para la locomoción, adherirse al sustrato y atrapar el alimento.

El sistema digestivo de estos organismos consta de un aparato especializado para masticar la comida denominado linterna de Aristóteles, la cual se proyecta fuera de la boca y consta de cinco pirámides calcáreas organizadas radialmente las cuales están unidas por fibras musculares (Rupert y Barnes, 1996). El canal alimentario es de tipo tubular, inicia con un esófago, continúa con un estómago rudimentario el cual se une al intestino por medio de un saco ciego. El intestino, se encuentra dividido en dos secciones: el proximal pequeño que da una vuelta por toda la testa y el distal largo que asciende, se une al recto y se descarga a través del ano (Figura 2) (Barnes, 1968; Marshall y Williams, 1972).

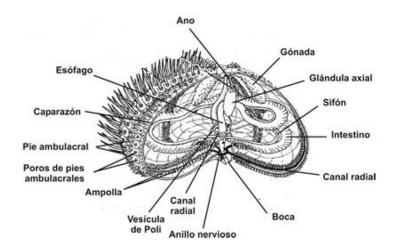


Figura 2. Estructura interna del erizo regular (Tomada de: DOF, 2012 el 25 de Marzo 2013).

El género *Strongylocentrotus* incluye a nueve especies de erizos, dentro de las que se encuentra *S. purpuratus* (Tabla 2). Su distribución geográfica abarca desde las costas de Alaska en Estados Unidos de América, hasta la Isla de Cedros en Baja California, México (Leighton *et al.*, 1966; Ebert, 1968; Morris *et al.*, 1980; Duggins, 1983). El hábitat común de *S. purpuratus* es en aguas someras y son los únicos erizos de zonas intermareales a lo largo de las costas de California. Estos organismos son de hábitos gregarios y se organizan en forma de capas de organismos, en donde los individuos más pequeños se encuentran en las capas inferiores para ser protegidos por las corrientes de agua y los depredadores (Parker y Ebert, 2004).

El erizo morado es similar a su relativo más cercano, el erizo rojo *M. franciscanus*. Además de las diferencias en la coloración externa, el erizo morado presenta tallas mucho menores, raramente alcanzando un diámetro de la testa de 10 cm (Parker y Ebert, 2004). Su crecimiento es altamente variable y está ligado a la disponibilidad del alimento. Al norte de Ensenada, B. C. se ha reportado en pozas de marea de bajamar un crecimiento con una tasa promedio de 0.83 mm al mes, observándose un crecimiento rápido en Abril y Mayo para los erizos adultos y de Abril a Junio para los juveniles (Sonnenholzner, 2011). Al año de edad alcanzan su madurez reproductiva cuando mide aproximadamente 3 cm y luego de cinco años alcanza una talla entre 3.2 y 5.1 cm (Kenner y Lares, 1991; Parker y Ebert, 2004; Beas-Luna, 2005).

En general, los erizos de mar son organismos herbívoros, su alimentación es bastante variada y depende del hábitat en el que se encuentren (Rupert y Barnes, 1996). En el medio natural, son consumidores de macroalgas por lo que se les considera un grupo importante en el pastoreo de las mismas. Sin embargo, en cautiverio, se ha demostrado que presentan un comportamiento omnívoro (Lasker y Giese, 1954; Fernandez y Pergent, 1998). Los erizos son planctónicos en su etapa larval y al

asentarse en el sustrato y culminar el desarrollo de su aparato mandibular, inician la etapa juvenil, en la que se alimentan de macroalgas (Morris *et al.*, 1980).

Tabla 2. Posición sistemática del erizo morado. Tomado de Kroh (2013).

Phyllum: Echinodermata
Clase: Echinoidea
Subclase: Euchino

Subclase: Euechinoidea
Superorden: Echinacea
Orden: Camarodonta

Familia: Strongylocentrotidae Género: Strongylocentrotus

Especie: S. purpuratus (Stimpson, 1857)

El erizo *S. purpuratus*, al sur de California en Estados Unidos y Baja California en México, se alimenta principalmente de la macroalga *M. pyrifera* (Palleiro-Nayar, 2004), mientras que los organismos que se encuentran al norte del estado de California consumen en su mayoría otros tipos de algas pardas como las del género *Nereocystis* (85%) y *Laminaria* (15%) debido a su amplia disponibilidad (Grupe, 2006). En ocasiones, cuando la disponibilidad de macroalgas es reducida, las poblaciones de erizos se trasladan a lugares en los que hay abundancia de diatomeas o algas coralinas en donde puedan raspar el sustrato y obtener alimento (Beas-Luna, 2005).

Debido a que el erizo morado aun no es considerado como un organismo de cultivo (Azad *et al.*, 2011), sus requerimientos nutricionales no han sido investigados hasta el momento (Watts *et al.*, 2010). Se tiene conocimiento de la composición proximal de *M. pyrifera* (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991; Cuesta-Gómez, 2012) su alimento en el medio natural por preferencia en las costas de Baja California (Palleiro-Nayar, 2004). Sin embargo, el estudio realizado por Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) obtuvo que al incrementar el nivel de proteínas de esta macroalga de 10.5 a 23%, los erizos presentaron un mayor crecimiento gonadal. Lo anterior sugiriere que los niveles apropiados de proteínas para su alimentación son iguales o superiores a los niveles de nutrientes encontrados en la macroalga. Por su parte, García-Chávez (2012) encontró que el crecimiento y la supervivencia de juveniles de erizo morado no se ve afectado por la incorporación de aceites vegetales (maíz y linaza) en la dieta, además de reportar el perfil de ácidos grasos en erizos alimentados con dietas deficientes en estos, sugieren la posible presencia de enzimas capaces de elongar y desaturar ácidos grasos poliinsaturados de 18 C a ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFAs), características que se han reportado en otros invertebrados marinos (Durazo-Beltrán *et al.*, 2003; Monroig *et al.*, 2013).

# 1.2 Nivel óptimo de inclusión de los macronutrientes en dietas para el erizo de mar

Conocer los requerimientos nutricionales (proteínas, carbohidratos, lípidos) así como los micronutrientes (vitaminas y minerales) es necesario para desarrollar dietas en organismos en cautiverio que permitan mantener las características ideales de los organismos a un costo rentable (Gatlin, 2002).

Existen algunas dietas que han sido formuladas para varias especies de erizo. Dentro de las cuales se encuentra la patente realizada por Lawrence *et al.* (1997) en Estados Unidos, la formula desarrollada por el Dr. Shawn Robinson en el "*St. Andrews Biological Station*" en Canadá, el alimento realizado por el Dr. Christopher Pearce en la empresa "*Ross Island Salmon Ltd.*", la dieta extruida desarrollada por el "*Norwegian Institute of Fisheries and Aquaculture Research Ltd.*" en Noruega (NIFA-feed) y la variación de esta, el alimento húmedo desarrollado por el Dr. Phil James realizado por el "*National Institue of Water and Atmospheric Research*" (NIWA) en Nueva Zelanda (Woods *et al.*, 2008). Como se especifica más adelante, algunos investigaciones realizadas con estas dietas y otros estudios con distintas formulaciones sugieren niveles de inclusión de los macronutrientes especie-especificos para distintas especies de erizos (de Jong-Westman, 1995; Fernandez, 1997; McBride *et al.*, 1998; Pantazis *et al.*, 2000; Olave *et al.*, 2001; Pearce *et al.*, 2002b; Castell *et al.*, 2004; Kennedy *et al.*, 2005; Hammer, 2006; Marsh y Watts, 2007; Heflin *et al.*, 2012; Gibbs *et al.*, 2013). Por lo que se puede inferir que no necesariamente por ser organismos de la misma clase comparten los mismos niveles de nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo. Por lo que, Watts *et al.* (2010) aconsejan evaluar los niveles nutricionales de cada especie en su lugar de distribución.

En los erizos, así como en la mayoría de los organismos, los niveles de nutrientes necesarios son exclusivos a cada etapa del ciclo de vida del organismo (Lawrence *et al.*, 2001; Robinson, 2004). Se ha visto que en los equinodermos, cuando se encuentran en etapa de crecimiento o de regeneración, los nutrientes como las proteínas, son dirigidas a incrementar el tamaño de la testa (crecimiento somático), mientras que al llegar a la etapa adulta, los nutrientes pueden ser almacenados en células del tracto digestivo y en las células gonadales (fagocitos nutritivos) (Lawrence y Lane, 1982; Marsh y Watts, 2007). De igual forma, se ha encontrado que la composición de proteínas, carbohidratos y lípidos en las gónadas, cambian de acuerdo al sexo y a la etapa del ciclo reproductivo en que se encuentren (Giese, 1967; Romero-Orozco, 1982; Watts *et al.*, 1998). Así mismo, en el mercado existen preferencias de palatabilidad de las gónadas. Por lo que la calidad se vincula directamente con el estado de desarrollo de los erizos (Woods *et al.*, 2008).

Lasker y Giese (1954) así como Hammer (2006), atribuyen un incremento en la cantidad de proteínas en las gónadas de erizo en individuos que se encuentran en actividad gametogénica. Altos niveles de carbohidratos son obtenidos previo al inicio de la gametogénesis, puesto que estos son utilizados como fuente de energía, y alcanzan los valores más bajos cuando las gónadas de los erizos están en un nivel más alto de desarrollo (Arafa *et al.*, 2012). Por su parte, Pearse y Giese, (1966) indican que en los erizos, los lípidos tienden a ser más altos en las hembras, probablemente por el desarrollo de membranas celulares y el constante almacenamiento de material de reserva. Mientras que Arafa *et al.* (2012) indican que la cantidad total de lípidos presenta una variación muy baja en el ciclo gonadal en relación a las proteínas y los carbohidratos.

Jones (2011) indica que los requerimientos de vitaminas en erizos varían de acuerdo a las diferentes formas químicas de una vitamina, al ciclo de vida del erizo y con relación a otros antioxidantes que se encuentren dentro de las mismas dietas formuladas. Finalmente, los minerales son requeridos para las funciones metabólicas como reacciones enzimáticas, siendo parte de la composición de algunas enzimas (e.g. polimerasas) o en la transferencia del complejo mayor de la proteína de la yema durante el desarrollo embrionario. Su deficiencia o exceso pueden causar distintas patologías que conllevan a la muerte de los organismos (Powell *et al.*, 2005; Jones *et al.*, 2005; Powell *et al.*, 2006; Jones *et al.*, 2010a, b). Por su parte, Greenfield *et al.* (1958) mencionan que los minerales pueden ser requeridos en altos niveles cuando ocurren las épocas más intensas de la gametogénesis debido a la necesidad de estos para la formación de células y tejidos.

Varios estudios mencionan que los erizos ajustan su ingesta de alimento hasta satisfacer los requerimientos de energía independientemente de los niveles de los otros nutrientes (Hammer, 2006; Taylor, 2006; Lawrence *et al.*, 2009). En algunos casos, la ingesta de dietas con altos niveles de proteínas (47%) ha llevado a saciedad a los organismos, lo que ha contribuido a un alto crecimiento de la testa e incremento en los índices gonadales (Fernandez-Pergent, 1998). Hammer (2006) observó que al alimentar a erizos pequeños de *L. variegatus* con bajos niveles de proteína (9%) los organismos compensaban la necesidad de energía con un incremento en la ingesta de alimento, hasta que llegan a un punto en que no es suficiente para suplir las demandas de proteína y mueren. Sin embargo, debe considerarse que a medida que los erizos aumentan en talla y en edad, la ingesta de proteína disminuye, debido a que ya no es requerida en gran cantidad para crecimiento somático.

En las dietas formuladas siempre se busca suplir la cantidad de energía requerida por el organismo pero con la que se obtenga un máximo crecimiento en talla e índice gonadal. En particular, los erizos de mar son organismos que presentan una baja tasa de respiración, no termo-regulan y son relativamente sedentarios, lo que sugiere que para los erizos un alimento completo tenga una bajo

requerimiento de energía respecto a otros grupos de organismos (Lawrence y Lane, 1982; Heflin, 2010). Sin embargo, resultados poco concluyentes han sido obtenidos al respecto. Por ejemplo, Taylor (2006) recomienda para juveniles de *L. variegatus* entre 104-112 mg proteína Kcal<sup>-1</sup>, mientras que Heflin (2010) asume que el requerimiento para *L. variegatus* está alrededor de 69 mg proteína Kcal<sup>-1</sup>.

El criterio de calidad gonadal es de suma importancia puesto que de acuerdo al lugar en el que el producto sea comercializado, el requerimiento de la calidad gonadal es diferente. Tanto la calidad del nutriente, así como el porcentaje de inclusión en la dieta, afectan la calidad gonadal de los erizos (Lawrence et al., 2001; Pearce et al., 2002a; 2002b; Robinson et al., 2002; Senaratna et al., 2005; Siikavuopio et al., 2007; Woods et al., 2008; Azad et al., 2011; Eddy et al., 2012).

Generalmente, uno de los mercados más exigentes en la calidad de las gónadas de los erizos, es el mercado japonés, el cual prefiere gónadas de sabor más dulce. Watts *et al.* (1998), mencionan que el nivel alto de carbohidratos en la dieta tal vez tenga un efecto positivo sobre el sabor de las gónadas, debido a que los carbohidratos son almacenados como glicógeno y probablemente favorezcan que el sabor sea dulce. Por otra parte, altos niveles de proteínas tienen un efecto adverso en la calidad de las gónadas de *E. chloroticus* y *S. droebachiensis* (Pearce *et al.*, 2002a, 2002b; Woods *et al.*, 2008), puesto que la cantidad y tipo de algunos aminoácidos causan diferentes sabores (Lawrence *et al.*, 2001; Murata *et al.*, 2002; Pearce *et al.*, 2002a; 2002b; Robinson *et al.*, 2002). En general, los sabores amargos están asociados a altas cantidades de aminoácidos libres como la arginina, histidina, isoleucina y leucina, entre otros. De acuerdo con Woods *et al.* (2008) gónadas con sabores "umami" son obtenidas en *E. chloroticus* cuando se alimenta con altos niveles de ácido aspártico y ácido glutámico en la dieta, mientras que el incremento de aminoácidos como la alanina, glicina, prolina, treonina y serina aumenta el sabor dulce de las gónadas de erizo

Richmond *et al.* (1997) y Parker y Ebert (2004) indican que *S. purpuratus* es capaz de producir gónadas de calidad comercial, sin embargo no se tiene conocimiento si el incremento en alguno de los niveles de proteínas, carbohidratos o lípidos en dietas formuladas tengan una influencia en la calidad gonadal, como ha sido observada con otras especies de erizo (i. e. *E. chloroticus*) (Woods *et al.*, 2008).

El valor nutricional de las dietas formuladas es usualmente evaluado a partir de cambios en la supervivencia, ganancia en peso, eficiencia alimenticia, tamaño y composición de sus tejidos (Lawrence *et al.*, 1997; Fernandez y Boudouresque, 2000; Pearce *et al.*, 2002b; Hammer, 2006). Pocos son los estudios realizados, utilizando dietas formuladas, destinadas a mejorar la calidad

gonadal (McBride *et al.*, 2004, Pearce *et al.*, 2002a; 2002b; Robinson *et al.*, 2002; Dale *et al.*, 2003; Woods *et al.*, 2008; Azad *et al.*, 2011). Hasta el momento, en *S. purpuratus* no se han evaluado niveles de los macronutrientes en dietas y su efecto sobre el crecimiento y la calidad de las gónadas. Hasta el momento solo se ha evaluado la dieta comercial "NIFA" que contiene 21% de proteína, 46% de carbohidratos y 7.9% de lípidos y supera en crecimiento gonadal a la alimentación con algas frescas (Azad *et al.*, 2011). Por lo que hasta el momento no se tiene conocimiento real de los requerimientos nutricionales en *S. purpuratus* y se desconoce si con esa formulación se esté obteniendo el máximo crecimiento y la mejor calidad gonadal.

#### 1.2.1 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas conformadas por uno o más polipéptidos, en donde cada polipétido consiste en cadenas lineales de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos (i.e. amidas). Dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de cada proteína estas desempeñan funciones ya sean estructurales como el colágeno, transportadoras como los citocromos o de catálisis como las enzimas (Walsh, 2002). Las proteínas es uno de los nutrientes que más costos económicos representa en la elaboración de dietas para animales (Webster, 2002; Wilson, 2002).

El adecuado suministro de las proteínas disminuye el consumo de alimento e incrementa la producción de gónadas en erizos (de Jong-Westman *et al.*, 1995; McBride *et al.*, 1998; Fernandez y Boudouresque, 2000; Agatsuma, 2000; Pearce *et al.*, 2002b; Hammer, 2006; Marsh y Watts, 2007; Woods *et al.*, 2008). Por el momento, los estudios se mantienen enfocados en evaluar los niveles óptimos de proteínas para algunas especies de erizos. La dieta desarrollada por Lawrence *et al.* (1997) recomienda utilizar 15-20% de proteína. Olave *et al.* (2001) aconsejan un nivel del 20% de proteína para *L. albus*, mientras que un 29% de proteína es recomendado para *P. lividus* (Fernandez, 1997). Por su parte, Hammer *et al.* (2004), Hammer (2006) y Heflin (2010), aconsejan entre un 15 y 20% de proteína en las dietas para *L. variegatus*. Niveles entre el 16 y 30% de proteína ha sido indicado para *S. droebachiensis* (de Jong-Westman, 1995; Pearce *et al.*, 2002b; Kennedy y Robinson, 2005; Eddy *et al.*, 2012), un 40% de proteína para erizos pequeños de *M. franciscanus* (McBride *et al.*, 1998). Por su parte el trabajo realizado por Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) en *S. purpuratus*, obtuvo un incremento significativo en los índices gonadales cuando los organismos fueron alimentados con *M. pyrifera* que presentaba un nivel de proteínas del 22.7%.

Por otra parte, en términos de calidad de las gónadas de los erizos, únicamente se ha resaltado que los aminoácidos (AA) que conforman las proteínas suministradas en dieta, especialmente si la principal fuente de proteína es la harina de pescado, estos afectan significativamente el sabor de las

gónadas haciéndolas más amargas. Se ha indicado que dentro de estos AA, los esenciales son los que provocan este sabor amargo disminuyendo así su calidad comercial, mientras que AA como el aspartato y el glutamato son específicos para generar gónadas de buen sabor (Woods *et al.*, 2008).

#### 1.2.2 Carbohidratos

Los carbohidratos son moléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno y según la complejidad de la molécula que conformen se pueden clasificar en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los carbohidratos funcionan como reserva de energía, metabolitos intermediarios, así como componentes estructurales del ácido desoxirribonucleico (DNA), el ácido ribonucleico (RNA) y son uno de los principales componentes de las paredes celulares de bacterias y plantas (Berg *et al.*, 2007).

En los erizos de mar así como los abulones, los carbohidratos son la principal fuente de energía metabólica, antes que las proteínas y los lípidos (Fleming *et al.*, 1996; Bautista-Teruel y Millamena, 1999; Marsh y Watts, 2007). Los carbohidratos solubles, son fácilmente digeribles por los erizos de mar (Lawrence *et al.*, 2007). Diferentes enzimas que hidrolizan los almidones, el glicógeno y polisacáridos algales como las amilasas y agarasas, han sido encontradas en el intestino de *S. purpuratus* (Lasker y Giese, 1954; Farmanfarmaian y Phillips, 1962; Lawrence *et al.*, 2007). Por su parte, la actividad de celulasas en el erizo morado no ha sido evaluada hasta el momento. La mayor parte de los carbohidratos, son almacenados en las gónadas en forma de glicógeno dentro de las fagocitos nutritivos (Marsh y Watts, 2007) y no en forma de grasas como en peces y mamíferos.

Varios estudios se han enfocado en establecer el requerimiento de carbohidratos en algunas especies de erizos. La dieta desarrollada por Lawrence *et al.* (1997) recomienda utilizar entre 40-55% de carbohidratos. Eddy *et al.* (2012) aconsejan utilizar más de un 40% de carbohidratos en las dietas para *S. droebachiensis*. Hammer (2006) aconseja utilizar un 23% de carbohidratos en dietas para *L. variegatus*, mientras que Heflin (2010), en esta misma especie aconseja un nivel no mayor de 21% de carbohidratos. La dieta desarrollada por McBride *et al.* (1998) para *M. franciscanus* obtuvo sus mejores resultados utilizando un nivel de 30.7% de carbohidratos. Por otra parte, Marsh y Watts (2007) y Hammer (2006), al alimentar a *L. variegatus* con bajos niveles de carbohidratos (12%) y altos niveles de proteína (31%) encontraron que promueven el crecimiento y desarrollo de los gametos, mientras que al alimentar con bajos niveles de proteína (9%) y altos niveles de carbohidratos (35%), los carbohidratos son almacenados y no se da inicio a la gametogénesis. Así mismo, Zalutskaya *et al.* (1986) obtuvieron la misma tendencia al encontrar niveles entre un 13 y 25% de glicógeno en las gónadas de *S. intermedius* antes de dar inicio a la gametogénesis. Sin embargo, a pesar de que no se

dé inicio al desarrollo de los gametos es posible que un alto nivel de glicógeno en las gónadas de los erizos sirva para poder obtener gónadas con sabores más dulces, las cuales son mayormente apetecidas en el mercado Japonés (Woods *et al.*, 2008).

#### 1.2.3 Lípidos

Los lípidos están compuestos por triglicéridos, ceras, fosfolípidos, esfingolípidos, esteroles y sus elementos derivados como los carotenoides y los ácidos grasos (Ag). Los lípidos funcionan como componentes estructurales, fuente de energía, fuente de ácidos grasos esenciales (Gibbs *et al.*, 2013) y son precursores de sustancias esenciales como los eicosanoides que actúan en procesos de osmorregulación y de la respuesta inmune (Hwang, 1992). Los requerimientos de este macronutriente dependen principalmente de la habilidad del organismo para sintetizar los distintos tipos de lípidos para soportar sus procesos fisiológicos (Gibbs, 2001).

En organismos marinos, los triglicéridos, sirven como fuente principal de ácidos grasos (Giese, 1966), y se ha encontrado que en los erizos de mar, los lípidos se almacenan en las gónadas, intestino y en la pared corporal. Aunque aún no se han establecido los requerimientos de lípidos y de ácidos grasos en dieta para erizos de mar, sí se ha encontrado que altas cantidades de lípidos afectan negativamente su crecimiento (Kennedy *et al.*, 2007).

En particular, los ácidos grasos (Ag), actúan como componentes estructurales (membranas celulares) y como precursores de otras moléculas. Su clasificación está dada de acuerdo a la longitud de la cadena de carbonos, el grado de insaturación y la posición de los dobles enlaces (Sargent *et al.*, 2002). Los Ag saturados (SFA) y monoinsaturados (MUFAs) ocurren normalmente en los animales, mientras que los poliinsaturados (PUFAs) son encontrados en gran cantidad en las algas. Los PUFAs de la serie *n*-6 (linoleicos) y de la serie *n*-3 (linolénicos), así como de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFAs) como el ácido graso eicosapentaenoico (EPA) y el decosahexaenoico (DHA), son muy importantes en peces puesto que no pueden sintetizarlos *de novo* (Sargent *et al.*, 2002).

En los equinodermos en general, se ha encontrado que son capaces de sintetizar *de novo* PUFAs de la serie *n-3* y *n-6* de 18 carbonos (18 C) (Ellington, 1982; González-Duran *et al.*, 2008). Específicamente, los erizos son capaces de sintetizar el ácido graso araquidónico (ARA) y el EPA a partir de los PUFAs de 18 C (Castell *et al.*, 2004) y los estudios realizados por Pantazis *et al.* (2000) y Castell *et al.* (2004) se puede inferir que lo erizos pueden suplir sus requerimientos de ácidos grasos esenciales si se les suministra una dieta rica en ácidos grasos 18: 2*n-6* y/o 18: 3*n-3*.

Hasta el momento no se tiene conocimiento en cuanto a los requerimientos de los ácidos grasos esenciales para ningún erizo de importancia comercial (González-Durán et al., 2008). Otros estudios se han encargado de buscar la fuente y los requerimientos apropiados de lípidos para algunas especies de erizos con miras en optimizar las dietas formuladas. Gibbs et al. (2011), sugieren que los lípidos de fuentes marinas como los ácidos grasos de la serie n-3 pueden influir en generar un óptimo crecimiento en *L. variegatus*. Hammer et al. (2010) en esta misma especie obtuvo resultados no favorables utilizando como fuente de lípidos aceite de soya, mientras que Castell et al. (2004) sugiere que la fuente de lípidos (i.e. aceite de maíz, linaza y arenque) y su cantidad (5%) no afectan la ganancia en peso ni el crecimiento en el erizo verde *S. droebachiensis*. Por otra parte, en la dieta propuesta por Lawrence et al. (1997), los lípidos no parecen muy importantes, pues el rango aconsejable se encuentra entre 0.1 y 8%.

Por otra parte, los lípidos como los fosfolípidos y el colesterol son importantes componentes de las membranas celulares, las cuales son esenciales para el proceso de crecimiento somático (Ebert, 2001; Marsh y Watts 2001). Este tipo de lípidos además contribuyen a la fluidez y flexibilidad de la membrana celular. Son también considerados ingredientes suplementarios (aditivos), empleados en la formulación de alimentos balanceados. En camarones se ha encontrado que los fosfolípidos son de importancia en el aumento de la digestión, emulsificación, absorción del colesterol y facilitan su transporte y movilización (Fenucci y Harán, 2007). En la actualidad la lecitina de soya es la principal fuente comercial de fosfolípidos, la cual está constituida por un complejo polar-neutro, en donde un 60% corresponde a la fracción polar. Se considera que la lecitina de soya además de tener los atributos de un fosfolípido, también aumenta la resistencia a el estrés osmótico y mejora la capacidad reproductiva en los camarones (Fenucci y Harán, 2007). En los erizos de mar el estudio de la inclusión de suplementos como la lecitina de soya en dietas se mantiene poco estudiada (González-Durán et al., 2008; Gibbs et al., 2010), se tiene conocimiento que en las especies S. intermedius y S. nudus existe actividad de fosfolipasas (Lewis, 1964; Lawrence et al., 2007) y en S. droebachiensis se ha encontrado que al ser alimentado con dietas con inclusión del 3% de lecitina de soya, los erizos exhiben mejor crecimiento y mayor acumulación de lípidos en el tejido gonadal (González-Durán et al., 2008).

# 1.3 Procesamiento y estándares de calidad de las gónadas de erizo para su comercialización

Ya que la acuicultura de los erizos de mar no es realizada escala comercial, el producto continúa siendo obtenido a través de la pesca. Una vez que los organismos son capturados del medio natural, estos son almacenados entre 0 y 5 °C, si es que estos no son empacados para transporte o

procesados inmediatamente luego de ser capturados (Kato y Schroeter, 1985; Ásbjörnsson, 2011). Cuando los erizos son almacenados en frío, los organismos disminuyen su metabolismo y pueden sobrevivir hasta 36 horas en estas condiciones (com. personal, Takashi Matsumoto, ISF trading Inc.).

El procedimiento comercial para procesar la gónada comprende los siguientes pasos: el desconche o ruptura de la testa, el cuchareo o extracción de la gónada, limpieza, clasificación y el empaque. La ruptura de la testa se realiza con ayuda de una herramienta especial en forma de tijera, luego la gónada es sacada con una cuchara y colocada en un escurridor en agua de mar a ~2 °C para que esta sea limpiada de fragmentos de materia orgánica (Figura 3). Para dar mayor firmeza a las gónadas, estas se colocan posteriormente en una solución de aluminio (KAI (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) a ~2 °C que puede variar de 0.4 a 0.7% durante aproximadamente una hora, hasta que la gónada sea firme (Figura 4) (Ásbjörnsson, 2011). Seguido, las gónadas son transferidas a escurridores con agua cada vez más limpia (Ásbjörnsson, 2011) y luego se escurren en mallas con tela para quitar el exceso de agua, luego la gónada es categorizada y entre 100 y 250 g de gónada son empacados en bandejas (Kato y Schroeter, 1985) y clasificadas de acuerdo a su calidad (Figura 5).

Además del procesamiento y presentación de las gónadas de erizo de mar descrito anteriormente (gónada fresca o uni), para seleccionar la mejor calidad en cuanto al color, tamaño, firmeza e integridad (completa); también existen presentaciones de menor calidad y precio como las gónadas saladas (Shio uni), congeladas (Reito uni), cocidas al vapor (Mushi uni) y las gónadas horneadas (Yaki uni), entre otros (Kato y Schroeter, 1985).



Figura 3. Proceso de extracción de gónada de erizo de mar. A. apertura a la mitad de la testa del erizo de mar; B. Primera clasificación por color; C. primer enjuague para quitar restos de erizo; D. segundo enjuague de las gónadas. Planta procesadora ISF Trading. Inc. Portland, ME. Tomada por Cuesta-Gomez (2016).



Figura 4. Proceso de extracción de gónada de erizo de mar. Se puede observar la piscina con las solución de aluminio, adentro se encuentran las charolas con gónadas (Izq.). Columnas de charolas drenando el agua de la solución de aluminio (Der.). Planta procesadora ISF Trading. Inc. Portland, ME. Tomada por Cuesta-Gomez (2016).





Figura 5. Proceso de empaque y clasificación de las gónadas. A. empaque en charola de unicel. B. empaque en charola de madera. C. D. y E. clasificación por color al finalizar la jornada. Planta procesadora ISF Trading. Inc. Portland, ME. Tomada por Cuesta-Gomez (2016).

# 1.4 Hipótesis

Dado que la variación de la composición proximal del alimento consumido por el erizo de mar influye en cambios en el crecimiento y la calidad gonadal, se espera que las distintas variaciones de la cantidad de proteínas, carbohidratos y lípidos en dietas formuladas para *Strongylocentrotus* purpuratus afecten la composición bioquímica, el crecimiento y la calidad comercial de sus gónadas. Por lo tanto:

- El índice gonadal de S. purpuratus aumentará conforme incrementa la razón de proteína/ carbohidrato en la dieta, pero su calidad gonadal disminuirá.
- El erizo morado S. purpuratus incrementará el índice gonádico conforme incrementa el nivel de proteínas, mientras que la calidad gonadal será mejor con un nivel alto de carbohidratos.
- El nivel de inclusión de aceite de pescado en las dietas formuladas para S. purpuratus no generan ningún efecto significativo en sus gónadas, mientras que los organismos alimentados con una dieta con altos aportes de fosfolípidos presentan un mayor incremento en el índice gonádico.

## 1.5 Objetivo General

Examinar el efecto de diferentes niveles de nutrientes en dietas formuladas para la alimentación de organismos adultos del erizo morado *Strongylocenrotus purpuratus* y su efecto sobre el índice gonádico y calidad gonadal.

## 1.5.1 Objetivos Particulares

- Evaluar la utilización de dietas con diferentes razones de proteínas y carbohidratos y su
  efecto en el índice gonádico y la calidad gonadal de organismos adultos del erizo morado
  Strongylocentrotus purpuratus.
- Evaluar el efecto de tres niveles de proteína (30, 23 y 17%) y dos niveles de carbohidratos (42 y 50%) respecto al consumo de alimento, índice gonádico, calidad gonadal, y composición proximal de las gónadas de organismos adultos del erizo morado *S. purpuratus*.
- Evaluar el efecto de dos niveles de aceite de pescado (0 y 3%) y tres niveles de lecitina de soya (0, 2 y 4%) en dietas formuladas para organismos adultos del erizo morado S. purpuratus y su efecto en el consumo de alimento, composición proximal de las gónadas, el índice gonádico y la calidad gonadal.

# Capítulo 2. Metodología

## 2.1 Colecta del erizo morado Strongylocentrotus purpuratus

Se realizaron en total tres extracciones de *S. purpuratus* del medio natural. Los lugares de extracción se encuentran ubicados en la Zona I y II de pesca del municipio de Ensenada, Baja California, México (Figura 6). Cada una de las extracciones corresponde a un experimento de alimentación de los organismos.



Figura 6. Distribución de erizo por zonas de pesca en Baja California (Palleiro-Nayar, 2004). (Tomada de Google Earth, 2017 y modificada).

La primera extracción de erizo se realizó durante la primera y segunda semana de Julio del 2014. Los organismos fueron colectados en la Zona I de pesca, específicamente en Rincón de Ballenas (31° 43′ 40.97′ N; 116° 40′ 38.54′′ O). La segunda y tercera extracción fueron realizadas en la Zona II de pesca, en la Bahía de Arbolitos (31° 42′ 30′′ N; 116° 41′ 23.8′′ O), la última semana de Marzo de 2015 y la primera semana de Noviembre de 2015, respectivamente.

Se obtuvieron un total de 300 organismos en cada extracción, asegurando que los organismos se encontraran con una talla superior a los 30 mm de diámetro de la testa (DT). Las extracciones fueron realizadas mediante buceo autónomo y colectados a mano con la ayuda de mallas de pesca. Los erizos fueron colocados en hieleras de poli-estireno con agua a  $17.5 \pm 1$  °C y trasladados al Departamento de Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). En el CICESE los organismos fueron colocados en tanques de 200-L con agua de mar hasta el cumplimiento del tiempo de aclimatación, descrito en la sección 2.2.1.

# 2.2 Sistema experimental para los experimentos de alimentación

#### 2.2.1 Condiciones de cultivo

Se utilizaron un total de 18 tanques circulares de 200-L cada uno de fondo cónico de color blanco. Dentro de cada tanque se dispuso de una canastilla con una abertura de malla de 5 mm y dimensiones de 46 x 38 x 17 cm (área de 0.46 m² y volumen de 0.03 m³). En cada canastilla se colocaron soportes de PVC de 2.5 cm de diámetro, para separar la base de la canastilla del fondo del tanque. En cada canastilla se colocaron 15 organismos y todos los tratamientos experimentales se realizaron por triplicado (Figura 7).

Para el mantenimiento de la temperatura de todo el sistema, se conectó a los 18 tanques de 200 L un tanque de compensación de 3000-L en donde se encontraba conectado el sistema de enfriamiento. En el primer ensayo de alimentación se utilizaron dos enfriadores en serie de ¼ Hp y uno de ½ Hp; mientras que para el segundo y tercer ensayo de alimentación se decidió utilizar los dos enfriadores en serie de ¼ Hp y un enfriador de mayor potencia (1 Hp). Para asegurar una buena circulación del agua hacia los enfriadores, se utilizaron dos bombas sumergibles de 1/15 Hp con capacidad máxima de 500 gal h<sup>-1</sup>.

Para el mantenimiento de la calidad del agua de mar se utilizó un biofiltro de 56.6-L de capacidad conectado a una bomba externa de 1 Hp. El agua de mar fue desinfectada con una lámpara de luz ultravioleta (Lifegard Aquatics, modelo QL-40) conectada antes de los tanques de 200-L. La limpieza de los tanques de 200-L, fue realizada mediante succión diaria con manguera (para retirar heces producidas y alimento sobrante) y los retro lavados del biofiltro fueron realizados cada tercer día. La tasa de recambio de agua de mar en cada tanque de cultivo fue de 1.3-L min<sup>-1</sup> para el primer ensayo de alimentación (Sección 2.4.1) y de 2-L min<sup>-1</sup> para el segundo (Sección 2.4.2) y tercer ensayo (Sección 2.4.3). En las ocasiones en las que se presentó mortalidad, los organismos muertos fueron removidos y no fueron reemplazados.

Los parámetros de calidad de agua como el nitrógeno amoniacal total (NAT), nitratos (NO<sub>3</sub>), nitritos (NO<sub>2</sub>) y alcalinidad fueron valorados dos veces por semana mediante los métodos colorimétricos de un kit de campo para agua de mar API®. La temperatura y el oxígeno disuelto fueron valorados diariamente con un oxímetro YSI modelo 55, y el pH con un potenciómetro marca HANNA. Para amortiguar el pH cuando se añadió bicarbonato de sodio marca Arm & Hammer®, hasta obtener pH de 7.9 y alcalinidad >130.

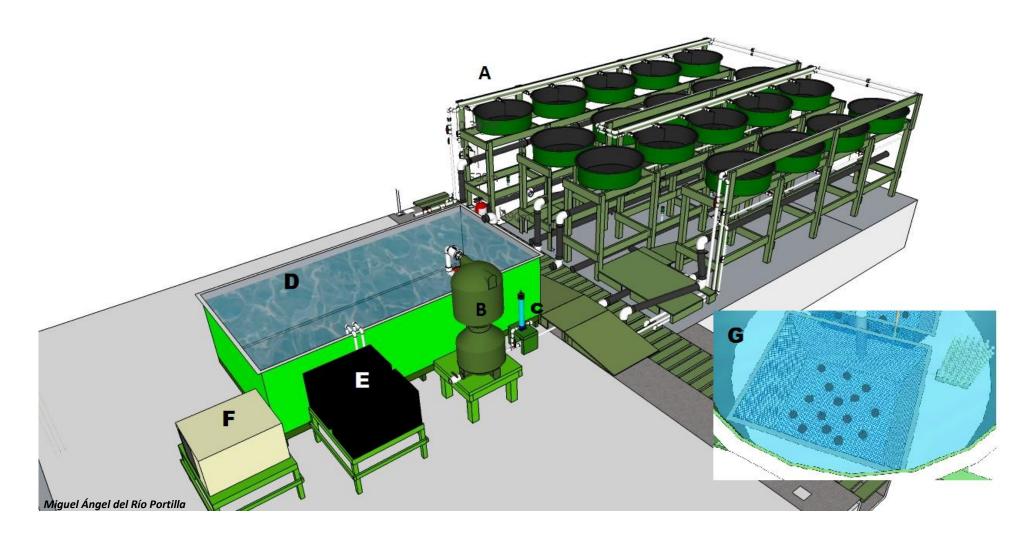


Figura 7. Descripción del sistema experimental utilizado para el mantenimiento de erizos. A) Tanques circulares de 200 L. B) Biofiltro de 56.6 L. C) Lámpara UV. D) Tanque de compensación de 3 t. E) Dos enfriadores en serie de ¼ Hp. F) Un enfriador de 1 Hp. G) Canastilla plástica para mantenimiento de los erizos y piedra difusora.

Los parámetros de calidad de agua en el sistema de recirculación fueron los siguientes: En el primer experimento de alimentación (Sección 2.4.1), se obtuvo  $0.17 \pm 0.1$  mg L<sup>-1</sup> para el NAT,  $2.4 \pm 0.1$  mg L<sup>-1</sup> para NO<sub>3</sub>, y los de NO<sub>2</sub> se mantuvieron por debajo de 0.01 mg L<sup>-1</sup>. A pesar de las intensas temperaturas ambientales que se presentaron en la época de este ensayo de alimentación (i.e. Verano 2014), se logró mantener la temperatura del agua con los enfriadores a 18.5 ± 0.5 °C. Por su parte el pH se mantuvo en 7.95 ± 0.05, la alcalinidad en 133.7 ± 17.2 mg L<sup>-1</sup>, el oxígeno disuelto en 6.2 ± 0.2 mg L<sup>-1</sup> y la salinidad en 34.9 ± 0.4 mg L<sup>-1</sup>. El fotoperiodo de este ensayo de alimentación fue de 14 horas de luz, 10 horas de oscuridad. En el experimento de alimentación 2 (Sección 2.4.2), los promedios de los valores de los parámetros de calidad fueron, 0.17 ± 0.1 mg L<sup>-1</sup> para el NAT, 24.6 ± 16.6 mg L<sup>-1</sup> para NO<sub>3</sub>, y 0.31  $\pm$  0.19 para los NO<sub>2</sub>. La temperatura del agua se mantuvo en 16.3  $\pm$  0.4  $^{\circ}$ C, el pH se mantuvo en 8.1 ± 0.1, la alcalinidad en 160.3 ± 19.7 mg L<sup>-1</sup>, el oxígeno disuelto en 6.6 ±  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  y la salinidad en  $34.8 \pm 0.4 \text{ mg L}^{-1}$ . El fotoperiodo de este ensayo de alimentación fue de 14 horas de luz, 10 horas de oscuridad. En el experimento de alimentación 3 (Sección 4.4.3), el NAT fue de  $0.2 \pm 0.05$  mg L<sup>-1</sup>, el NO<sub>3</sub> fue  $4.3 \pm 2.2$  mg L<sup>-1</sup>, y los NO<sub>2</sub> se mantuvieron por debajo de 0.01 mg L<sup>-1</sup>. La temperatura del agua se mantuvo en 16.1 ± 0.6 °C, el pH se mantuvo en 8.03 ± 0.05, la alcalinidad en 146.6  $\pm$  19.4 mg L<sup>-1</sup>, el oxígeno disuelto en 6.9  $\pm$  0.7 mg L<sup>-1</sup> y la salinidad en 34.9  $\pm$  0.3 mg L<sup>-1</sup>. El fotoperiodo de este ensayo de alimentación fue el de la época climática, 10 horas de luz, 10 horas de oscuridad. En los tres ensayos de alimentación la intensidad lumínica dentro de cada tanque de cultivo de 200-L fue de 50 lux.

Debido a que se notó la presencia de bacterias tipo *Vibrio* en el sistema de cultivo luego de colocar los erizos provenientes del medio natural en el primer experimento de alimentación, se decidió realizar en los experimentos de alimentación 2 y 3 (secciones 2.4.2 y 2.4.3), el análisis de la presencia de estas bacterias cada semana. Para esto se utilizó agar TCBS como medio de cultivo y siguiendo la metodología propuesta por Zimbro *et al.* (2009). Para este el análisis, 1 mL de agua del tanque reservorio de 3000-L fue diluido en 9 mL de una solución de NaCl al 0.9%, luego la muestra de 10 mL fue filtrada por un filtro estéril Whatman de 0.2-μm de poro y luego fue incubado en el agar TCBS durante 24 h a 28 °C. Posteriormente las colonias fueron contadas y reportadas como UFC mL<sup>-1</sup>. La cantidad obtenida de bacterias *Vibrio* spp. se mantuvo en 187 ± 25 UFC mL<sup>-1</sup> en el ensayo de alimentación 2 y de 125 ± 72 UFC mL<sup>-1</sup> en el ensayo de alimentación 3.

Con la finalidad de asegurar que los organismos no presentaran restos de alimento en el tracto digestivo y los experimentos se iniciaran con todos los organismos en igualdad de condiciones, los erizos fueron expuestos a un periodo de aclimatación. La aclimatación consistió en mantener a los organismos en los tanques con las condiciones experimentales pero sin alimentación, y aquellos organismos muertos fueron removidos antes de iniciar la fase experimental. El tiempo de

aclimatación fue de 15 días para el primer y segundo ensayo de alimentación, y de 30 días para el tercer ensayo de alimentación.

Una vez concluido el tiempo de aclimatación se dio inicio a la alimentación. Las dietas formuladas fueron proporcionadas a los organismos *ad libitum* durante 9 semanas para el primer experimento de alimentación y de 12 semanas para el segundo y tercer experimento de alimentación.

## 2.3 Variables de respuesta

En todos los ensayos experimentales un total de 30 organismos aclimatados fueron tomados para obtener los valores iniciales de cada una de las variables descritas a continuación. Las variables fueron evaluadas en distintos periodos de muestreo, con la finalidad de tener registro y observar el efecto de la alimentación en el cambio en las gónadas de los organismos conforme avanzaba el tiempo. En el primer experimento de alimentación (sección 2.4.1) a la sexta semana se tomaron 4 organismos de cada repetición, para una muestra por tratamiento de 12 organismos y al finalizar el experimento se tomaron en consideración todos los organismos restantes para la valoración de sus gónadas. Únicamente, en el primer experimento de alimentación (Sección 2.4.1), fueron tomados 30 organismos del medio natural al finalizar alimentación con la finalidad de tener observaciones del medio natural en esta época del año.

En el segundo experimento de alimentación (sección 2.4.2), se tomó un organismo por repetición en la sexta semana y 4 organismos de cada repetición en la novena semana y al finalizar el experimento se tomaron en consideración todos los organismos restantes para la valoración de sus gónadas. En el tercer experimento de alimentación (sección 2.4.3) se tomaron 4 organismos de cada repetición en la sexta semana y al finalizar se tomaron los organismos necesarios de cada repetición (> 8 erizos) dejando 4 organismos por tanque para dar continuidad a la alimentación por 4 semanas adicionales (resultados de estas semanas adicionales no se presentan en esta tesis).

#### 2.3.1 Supervivencia

La supervivencia de los organismos fue calculada considerando el número inicial de los organismos como el 100% y relacionado con el total de los organismos al finalizar cada semana del periodo experimental, por medio de la ecuación (1).

#### 2.3.2 Crecimiento

El peso húmedo de los organismos (g) inicial y final fue evaluado mediante la inmersión de cada organismo en un volumen conocido de agua, y por diferencia en el peso del agua y la del agua con el organismo se calculó el peso de cada organismo. El crecimiento fue evaluado mediante la medición del diámetro de la testa (DT) (mm), el cual fue estimado con un vernier tomando en cuenta la parte más ancha del DT del organismo. Las gónadas fueron extraídas y limpiadas para tomar su peso húmedo (g) y así evaluar el índice gonadal (IG) de acuerdo a la ecuación (2).

#### 2.3.3 Consumo

La Tasa de consumo diario del alimento fue evaluada de acuerdo a lo propuesto por Uki y Watanabe (1992). En donde se realizó la valoración del estabilidad del alimento, mediante la ecuación (3), cuantificando el porcentaje de cantidad de dieta recuperada (5), luego de haber estado sumergidas en las condiciones de cultivo (pero sin organismos) durante 24 h. Los porcentajes de recuperación de las dietas experimentales se muestran en el Anexo A.

$$S = g \text{ dieta}_{\text{recuperado}} \times 100 / g \text{ de dieta}_{\text{inicial}}$$
 (3)

La cantidad de alimento no consumido por los organismos fue valorado luego de haber alimentado a los organismos con las dietas experimentales durante al menos treinta días. El alimento sin consumir fue colectado y colocado en bandejillas de aluminio, posteriormente se enjuago el alimento no consumido con agua destilada para remover sales y se llevó a peso seco constante en una estufa a 60 °C. La tasa de consumo diaria fue calculada mediante la ecuación (4).

TCD = 
$$(g_{peso seco} de la dieta ofrecida x S_{peso seco} / 100) - R_{peso seco}$$
 (4)

En donde: *S* indica el porcentaje de recuperación de las dietas luego de haber estado sumergidas en las condiciones de cultivo y *R* corresponde a la cantidad de dieta sobrante luego de haber alimentado a los organismos. Los porcentajes de recuperación (*S*) para las dietas de los tres experimentos de alimentación se encuentran en el Anexo A. Los datos fueron reportados como gramos de alimento seco consumido por organismo por día, y el proceso de colecta de alimento fue realizado durante 10 días consecutivos, del día 31 al día 41 de alimentación.

La tasa de conversión alimenticia fue evaluada en relación a la ganancia en peso gonádico (TCAG) según Siikavuopio (2009) calculada mediante la ecuación 5 y la tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG) fue calculada mediante la ecuación 6.

El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) fue valorado mediante la metodología descrita por Montaño-Vargas *et al.* (2002). Para esto, luego de haber transcurrido 30 días después de la primera alimentación, se colectaron más de 2 g (peso seco) de muestras de heces fecales y de alimento. Las muestras fueron pesadas e incineradas a 500 °C en vasos de precipitado de 25-mL, luego las cenizas fueron pesadas y posteriormente se hirvieron en 10-mL de HCL 2N durante 5 minutos, los recipientes fueron cubiertos por una tapa de vidrio de reloj para evitar la evaporación. La solución resultante fue filtrada mediante filtros de membrana de nylon de 0.7 µm, se realizaron enjuagues con agua destilada y posteriormente los filtros fueron secados en sobres de aluminio previamente pesados durante 1 hora a 100 °C. Finalmente, las muestras se dejaron enfriar en un desecador y se registró el peso de las cenizas resultantes. Para el cálculo de las cenizas insolubles en ácido (CIA) se utilizó la ecuación (7), para el cálculo del CDA se usó la ecuación (8) y para el cálculo del CDA de la proteína (CDAP) (Schlosser *et al.*, 2005) se utilizó la ecuación (9).

#### 2.3.4 Calidad gonadal

Para valorar la calidad gonadal (coloración, firmeza, textura y sabor), se tomaron los cinco lóbulos gonadales de los organismos. Utilizando la escala de criterios propuesta por Pearce *et al.* (2002a) (Tabla 3) para la asignación de un valor para cada criterio de calidad gonadal. La escala indica que las gónadas que presentan los valores más altos de cada criterio tienen el valor comercial más bajo, mientras que los valores más bajos de la escala de criterio reflejan una excelente calidad comercial. Para todos los ensayos, una persona fue la encargada de evaluar el color, textura y firmeza de las gónadas; mientras que el sabor de las gónadas fue valorado por dos personas de forma independiente y sin conocimiento alguno de los tratamientos de alimentación.

Para la valoración de la coloración de las gónadas, también fue utilizado un colorímetro marca 3nh modelo NR110, el cual genera las coordenadas  $L^*a^*b^*$  de acuerdo a lo descrito por la Comisión internacional de iluminación "CIELab", utilizando las mismas muestras ya evaluadas. Debido a que en la industria de alimentos el colorímetro de mayor uso es el Colorímetro Hunter Lab Scan XE, se realizó la validación del colorímetro NR110 con cartas de color estándar (Anexo B).

Como medida de comparación de las gónadas de los respectivos tratamientos de alimentación con relación al color gonadal para un mercado Japonés, dos cartas de color fueron utilizadas de acuerdo a lo descrito por James et~al. (2004). Las cartas 8 y 12 del abanico de color de yemas de huevo de DSM son las utilizadas en el mercado japonés como indicadoras de gónadas de alta calidad (i. e. NCS S 0570-Y30R y NCS S 0570-Y20R) por su similitud a los colores buscados. Los valores de CIELab para las cartas 8 y 12 del abanico de color de las yemas de huevo DSM tomadas con el colorímetro NR110 son L\* = 79.92, a\* = 18.08, b\* = 81.72 and L\* = 71.62, a\* = 34.09 and b\* = 70.11, respectivamente. Estos valores fueron comparados con los valores de las gónadas en cada uno de los tratamientos utilizando el algoritmo CIEDE2000 (Diferencia de color total,  $\Delta E_{00}$ ) (Luo et~al., 2001; Green, 2002). El valor de  $\Delta E_{00}$  indica el grado de diferencia del color entre la muestra y la carta de color, entre más bajo sea el valor de  $\Delta E_{00}$  mayor es la similitud con la carta de color.

Tabla 3. Escala de criterios para evaluar la calidad gonadal de *Strongylocentrotus purpuratus* (Pearce *et al.*, 2002a).

Criterio	Escala
Color (al ojo) (escala 1-4)	1= Amarillo o anaranjado brillante (Grado A)
	2= Amarillo o anaranjado pálido (Grado A o B)
	3= Amarillo-café, anaranjado-café, rojo-café, crema (Grado B o C)
	4= Cualquier otro diferente a los de arriba (Grado C)
Textura (al ojo) (escala 1-4)	1= Dos mitades (segmentos) de gónada diferentes, muy suaves
(333.5 - 1,	2= Dos mitades (segmentos) de gónada diferentes, suaves (distinción y suavidad)
	3= Distinción de las dos mitades de gónada posible, granulares
	4= Distinción de las dos mitades de gónada no es posible, granulares
Firmeza (al ojo) (escala 1-4)	1= Muy firmes
	2= Firmes
	3= Suaves
	4= Muy suaves
Sabor (2 personas)	
(escala 1-5)	1= Excelentes (muy dulces)
	2= Muy buenas (muy dulces, pero < 1)
	3= Buenas (dulces)
	4= Satisfactorias (blandas, no dulces: no agrias)
	5= Muy pobres (muy agrias)

## 2.3.5 Evaluación de los estadios reproductivos de Strongylocentrotus purpuratus

Para el análisis histológico de las gónadas se tomaron secciones de aproximadamente 1 cm de ancho de un corte trasversal de las gónadas y fueron dispuestos en casetes histológicos y fijados en solución Davidson. Posteriormente los tejidos fueron embebidos en parafina para luego realizar cortes de 5 µm de espesor. Los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina. Las láminas histológicas fueron analizadas utilizando un microscopio Olympus (Miami, FL, USA) modelo CX31. Los estadios reproductivos de cada individuo fueron identificados siguiendo la descripción propuesta por Unuma y Walker (2009) (Tabla 4) (Figura 8).

Tabla 4. Estadios del desarrollo gonádico del erizo de mar. Descrito por Unuma y Walker (2009).

Estadio	Características
I. Antes de la gametogénesis	Presencia de acinos llenos de fagocitos nutritivos (fn). Algunos ovocitos primarios (Oc) pueden estar presentes en la periferia y la tinción de hematoxilina puede mostrar varios puntos los cuales son indicativos de óvulos fagocitados o remanentes (or). En los machos es difícil identificar células espermatogénicas pero generalmente hay abundantes puntos o residuos teñidos con hematoxilina.
II. Inicio de la gametogénesis	se encuentran muchos ovocitos en desarrollo o cúmulos de espermatogonias $(eg)$ en la periferia del acino y el centro lleno de $fn$ .
III. Mitad de la gametogénesis	los $fn$ son reemplazados con óvulos $(Ov)$ o espermatozoides $(Ez)$ en el medio del acino. Numerosos ovocitos y espermatocitos en desarrollo en la periferia, disminución gradual de los $fn$ y ahora estos se encuentran entre las células germinales $(CG)$ .
IV. Final de la gametogénesis	Gónadas maduras, todo el centro del acino está lleno de óvulos o espermatozoides y los <i>fn</i> están desocupados y en la periferia del acino.
V. Luego del desove	El centro del acino tiene numerosos espacios intersticiales, en blanco o desocupados con residuos de óvulos o espermatozoides, los <i>fn</i> levemente fagocitan los residuos de gametos e inician nuevamente el crecimiento y almacenamiento de nutrientes retornando nuevamente al estadio 1.

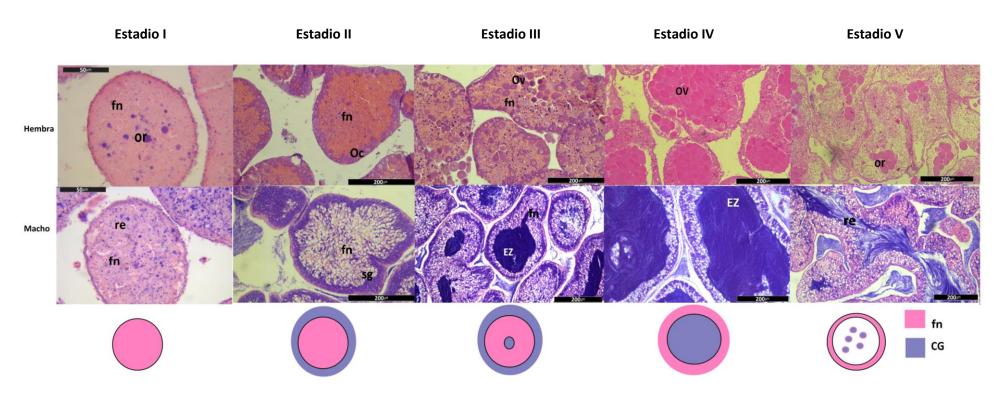


Figura 8. Cambios histológicos en las gónadas del erizo morado *S. purpuratus* durante la gametogénesis. Hembras (fila superior) y machos (fila inferior). Tinción Hematoxilina-Eosina. Estadio I: Antes de la gametogénesis (40x, 50 μm); Estadio II: Inicio de la gametogénesis (10x; 200 μm); Estadio III: Mitad de la gametogénesis (10x; 200 μm); Estadio IV: Final de la gametogénesis (10x; 200 μm); Estadio V: Desovado (10x; 200 μm). fn = Fagocito nutritivo, or = huevo remanente, re = espermatozoide residual, Oc = Ovocito, Ov = Ovulo, eg = espermatogonia, Ez = Espermatozoide, CG= células germinales. Identificación de acuerdo con Unuma y Walker (2009).

## 2.3.6 Evaluación de la composición bioquímica de las gónadas y las dietas

### 2.3.6.1 Análisis proximal

La evaluación de la composición proximal de las gónadas y de las dietas fue realizada siguiendo las metodologías descritas por la AOAC (1990). Se utilizó el protocolo de Kjeldahl (1883) para las proteínas, utilizando dos tipos de proteína estándar, la harina de soya integral marca PADSA que cuenta con 40% de proteína y caseína marca Sigma Aldrich. Por otra parte la cantidad de lípidos totales fue obtenida mediante la metodología descrita por Folch *et al.* (1957), las cenizas mediante incineración por mufla a 500 °C. El contenido de fibra fue valorado en las dietas mediante una digestión ácido-detergente, por el método del filtro de cerámica (962.09) de AOAC (1990). El extracto libre de nitrógeno (E L N) fue valorado en gónadas y dietas mediante la diferencia de los demás constituyentes mediante la ecuación (10) y la cantidad de energía de las dietas fue calculada multiplicando por el factor de conversión para proteína de (5.6), lípidos (9.46) y E L N (4.0) y presentada como energía total Kcal g<sup>-1</sup> (AOAC, 1990).

$$E L N (\%) = 100 - (\% proteína + \% lípidos + \% cenizas + \% fibra)$$
 (10)

Para el tercer ensayo experimental, en las dietas se realizó una separación de lípidos de acuerdo a su polaridad, con la finalidad de conocer la cantidad de lípidos tanto polares como neutros que se ofrecieron en las dietas. Los lípidos obtenidos mediante extracción por Folch et al. (1957), fueron resuspendidos en cloroformo y purificados mediante cromatografía de columna utilizando sílice gel como adsorbente (Molina-Cárdenas, 2016; Ibrahim et al., 2013). Para ensamblar la columna se utilizó una pipeta Pasteur de vidrio a la cual se le insertó un tapón de algodón para evitar la fuga del adsorbente y se fijó en posición vertical. El empaquetamiento de la columna fue por vía seca. Se pesaron 1 g de sílica gel (poroshell 200-300 μM, Pure Chemical Scientific, Ing.), se introdujeron por la parte superior de la pipeta y después se hidrató con cloroformo. La altura de la columna fue de 6 cm con un diámetro de 0.6 cm y un volumen de 2-mL. Una vez que la mayor cantidad de cloroformo pasó a través de la columna y sin que la parte superior quedara seca, se procedió a añadir la muestra. Una vez que la muestra se introdujo en la columna se procedió a la elución de la misma, utilizando como solventes cloroformo, acetato de etilo, metanol y finalmente hexano. El volumen del solvente adicionado en cada caso fue de 4-mL. La colecta de las fracciones se realizó en tubos de vidrio previamente pesados y se colectaron volúmenes de aproximadamente 3-mL de cada fracción y posteriormente se llevaron a sequedad. Una vez secos, se registró el peso de los tubos y por diferencia del peso del tubo previamente pesado y el peso del tubo más el lípido de cada elución con cada solvente, se calculó la cantidad de compuesto obtenida en cada fracción.

## 2.3.6.2 Ácidos grasos

Para la evaluación de los ácidos grasos se tomaron las extracciones de lípidos realizadas mediante el método de Folch *et al.* (1957) y se saponificaron dos veces en una solución 0.3 N de KOH metanólica al 90%, posteriormente se realizó una metilación adicional de los ácidos grasos durante 15 minutos con trifluoruro de boro al 14% en metanol (BK<sub>3</sub>-MeOH) (Metcalfe *et al.*, 1966). Los ésteres metílicos se disolvieron en hexano grado cromatografico en una relación de 100 μg /μL y se analizaron en un cromatógrafo de gases (Agilent 7890A) con un columna capilar (123-3232, DB-FFAP, de 30 m de longitud, 0.320 mm de diámetro y 0.25 μm de espesor de película, Agilent J & W, GC columns) y un detector de flama ionizado. Como gas de acarreo se usó nitrógeno a un flujo de 3 mL min<sup>-1</sup>. El volumen de inyección utilizado fue de 1 μL, con una dilución de 100:1. La rampa de temperatura para este método fue con una temperatura inicial de 120 °C con aumentos de 9 °C min<sup>-1</sup> hasta alcanzar 190 °C. Luego, se realizó un incremento a 3 °C min<sup>-1</sup> hasta llegar a una temperatura de 230 °C en donde se mantuvo durante 4 minutos. Finalmente, la identificación de los ácidos grasos se efectuó por comparación con los tiempos de retención del estándar comercial 37 Component FAME Mix, Supelco (Sigma Cat. 47885-U). Para estos se utilizó el programa Chem Station versión B.04.01 (Agilent, USA).

#### 2.3.6.3 Aminoácidos

En cuanto a la valoración de aminoácidos se siguió el protocolo descrito por Rutherfurd y Gilani (2009) en donde, las muestras de cada una de las dietas fueron desengrasadas utilizando el método de Folch et~al. (1957). De la muestra seca se pesó una cantidad aproximada 20 mg, la extracción de la proteína se realizó en tubos de vidrio con tapa y se les agregó 2 mL de HCl 6N fenólico (1%) y se dejaron en atmósfera de nitrógeno. Cada tubo se calentó a 110 °C durante 24 h para llevar a cabo la hidrólisis ácida de las muestras. A la muestra digerida se agregó 1 mL de estándar interno (ácido  $\alpha$  amino-n-butírico) a una concentración de 2.5 mM y la mezcla se aforó a 25 mL con agua grado HPLC. En total se filtraron 15 mL de muestra mediante filtros de membrana de nylon de 0.2  $\mu$ m y se almacenaron en atmósfera de nitrógeno hasta el momento de realizar la determinación.

La determinación e identificación de aminoácidos se realizó en un equipo de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) Agilent Technologies 1260 Infinity, que cuenta con una bomba cuaternaria e inyector automático. La detección fue realizada mediante un detector de arreglo de diodos (DAD) y un detector de espectro de fluorescencia. Para esto, se utilizó una columna de fase reversa (Zorbax AAA, 4.6 x 150 mm y 3.5 μm). El tiempo de determinación para cada muestra fue de 26 minutos. La concentración de los aminoácidos fue obtenida mediante el cálculo de las áreas de los picos en cada

aminograma y relacionadas con la curva de calibración del estándar de aminoácidos de una concentración de 1000 pico mol/  $\mu$ L de Agilent Technologies. Para la curva de calibración fueron utilizadas las concentraciones de 1000, 750, 500, 250 y 0 pico mol /  $\mu$ L (Anexo C).

## 2.4 Formulación y elaboración de las dietas experimentales

La formulación de las dietas del experimento 1, fueron realizadas con base en los niveles de inclusión de proteínas, que han sido reportados como potenciales para obtener un incremento en el índice gonadal en varias especies de erizos de mar de importancia comercial (de Jong-Westman, 1995; Fernandez, 1997; Lawrence et al., 1997; Olave et al., 2001; Pearce et al., 2002b; Hammer et al., 2004; Kennedy y Robinson, 2005; Hammer, 2006; Heflin, 2010; Eddy et al., 2012). De acuerdo a lo indicado por Woods et al. (2008) y Eddy et al. (2012), niveles altos de inclusión de carbohidratos (>40%) fueron tomados en consideración, ya que podrían efectuar un cambio sobre la calidad gonadal.

Para determinar cuál de la (s) dieta (s) resultaron con un efecto positivo combinado más alto, tanto del incremento en masa de la gónada, como de la calidad, se decidió atribuir un porcentaje de importancia al peso húmedo gonadal, el índice gonadal, y los atributos de calidad. La (s) dieta (s) que presentarán la mayor sumatoria de estos atributos fueron seleccionadas para el siguiente ensayo, como se aprecia en el Anexo D.

# 2.4.1 Evaluación del uso de dietas con diferentes niveles de inclusión de proteínas y carbohidratos: (Exp.1)

Se formularon cinco dietas experimentales para evaluar el efecto de la relación proteína y carbohidrato en dieta sobre la calidad de las gónadas de *S. purpuratus*. Para el nivel de proteína, se utilizaron cinco porcentajes de inclusión (30, 26, 23, 20, y 17%), al nivel más alto de proteína se le incorporó la cantidad más baja de carbohidrato (almidón de maíz) y así sucesivamente (42, 46, 50, 54, y 58 %, respectivamente). Las dietas fueron denominadas de la siguiente forma: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto; correspondientes a las formulaciones presentadas en la (Tabla 5). En este ensayo de alimentación se utilizó la macroalga *Macrocystis pyrifera* como control de alimentación, la cual fue extraída del mismo sitio de captura de los organismos descrito en la sección 2.1.

Para la fabricación de las dietas, la harina de pescado utilizada fue de sardina de la marca proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. (60% proteína, 12% lípidos, 19% cenizas), la cual fue desengrasada con hexano grado industrial durante 24 horas, hasta obtener una cantidad de lípidos menor del 5%. Esto permitió tener un mayor control de la cantidad de lípidos suministrados, especialmente en las dietas con alta inclusión de proteína. Por su parte los lípidos y los demás ingredientes se mantuvieron al mismo nivel de inclusión en todas las dietas (Tabla 5). Para todas las dietas el 15% de la inclusión de almidón de maíz fue gelatinizado. El ajuste al 100% de la formulación se realizó con alfa celulosa de acuerdo con Lawrence *et al.* (2010).

Para la elaboración de las dietas, la harina de pescado y la harina de *M. pyrifera* fueron previamente pulverizadas mediante un puverizador (Pulvex S.A. de C.V.). Todos los ingredientes fueron tamizados por una malla de 200 µm de apertura. La mezcla de todos los ingredientes fue realizada en un mezcladora (Hobart, Legacy <sup>®</sup> Countertop Mixer). Primero, todos los ingredientes secos fueron mezclados durante 15 minutos, posterior a esto se añadieron el aceite de pescado y la etoxiquina y se dejaron mezclar durante 10 minutos. Luego, el 15% de almidón de maíz previamente gelatinizado (con agua a 70 °C hasta el cambio de color a cristalino) fue añadido junto con la grenetina disuelta en agua caliente (100 °C). Todos los ingredientes se dejaron mezclar durante 10 minutos hasta obtener una pasta homogénea. Las dietas contenían aproximadamente un 50% de humedad. La mezcla, fue extendida manualmente en bandejas y refrigeradas a 4 °C hasta su gelificación (aprox. 3 horas). Posteriormente se cortaron tiras de 2 cm de ancho x 2 cm de largo y 0.5 cm de alto. Finalmente, las dietas fueron almacenadas en papel aluminio a -20 °C hasta su utilización. Una vez elaboradas las dietas se realizó su evaluación de la composición bioquímica de acuerdo a la metodología descrita en la sección 2.3.6. La composición bioquímica de las dietas y de las macroalgas utilizadas se presenta en la Tabla 6 y su composición de ácidos grasos en el Anexo D.

Tabla 5. Porcentaje de inclusión de los ingredientes y composición proximal (% ± DE) de las dietas, basado en 100-g de muestra seca. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

		(Prote	eína /Carboh	idrato)	
	PA-CB	PMA-CMB	PM-CM	PMB-CMA	PB-CA
INGREDIENTE	30/42	26/46	23/50	20/54	17/58
Harina de pescado <sup>ab</sup>	37.5	31.0	26.0	21.5	17.0
Harina de Macrocystis pyrifera	10.0	10.0	10.0	9.0	9.0
Almidón de maíz	34.0	41.0	46.3	53.0	58.5
Celulosa	0.8	0.40	0.0	0.0	0.0
Aceite de pescado	3.7	3.6	3.7	3.5	3.4
Lecitina de soya	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
Colesterol	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Grenetina (290 Blooms) c	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitaminas y minerales de	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
Beta caroteno <sup>f</sup>	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Etoxiquina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamina C estabilizada <sup>d</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Carbonato de calcio	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Hexametafosfato de sodio	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

a. Harina de sardina proporcionada por proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, México

b. Desengrasada con hexano grado industrial 95%

c. El % está incluido en la cantidad de proteínas totales

d. Rovimx <sup>®</sup>, Stay-C donado por DSM Guadalajara, México.

e. Mix de vitaminas y minerales (g kg<sup>-1</sup>): ácido ρ-aminobenzoico, 1.45; biotina, 0.02; mio-inositol, 14.5; ácido nicotínico, 2.9; ácido pantoténico, 1.0; pirodoxina-HCl, 0.17; riboflavina, 0.73; tiamina-HCl, 0.22; menadiona, 0.17; α-tocoferol, 1.45; cianocobalamina, 0.0003; calciferol, 0.03; L-ascorbil-2-fosfato-Mg, 0.25; ácido fólico, 0.05; cloruro de colina, 29.65; retinol, 0.015; NaCl, 1.838; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 6.85; NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 4.36; KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>, 11.99; Ca(H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 6.79; Fe-citrato, 1.48; Ca-lactato, 16.35; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.009; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.17; CuCl<sub>2</sub>, 0.0005; MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.04; KI, 0.008 y CoCl<sub>2</sub>, 0.05

f. Beta-caroteno donado por PIVEG Comercial S.A. de C.V.

Tabla 6. Composición proximal (% ± DE) y contenido de energía (Kcal) de las dietas experimentales del primer ensayo basada en una cantidad de 100 gr de peso seco. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

	PA-CB (30/42)	PMA-CMB (26/46)	PM-CM (23/50)	PMB-CMA (20/54)	PB-CA (17/58)	M. pyrifera
Proteína	30.1 ± 0.1	26.1 ± 1.1	23.0 ± 1.4	19.5 ± 1.3	16.7 ± 4.3	2.9 ± 0.4
Lípidos	7.1 ± 1.4	6.8 ± 1.3	7.5 ± 2.3	6.8 ± 1.3	6.6 ± 2.4	5.6 ± 0.3
Fibra	0.8 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	
ELN	46.2 ± 1.5	51.0 ± 1.7	53.4 ± 0.9	59.9 ± 3.3	63.9 ± 3.9	67.5 ± 2.4
Cenizas	15.8 ± 0.1	15.6 ± 0.6	15.6 ± 0.7	13.6 ± 0.7	12.7 ± 0.6	24.0 ± 2.2
Energía Total Kcal g <sup>-1</sup>	4.2	4.1	4.1	4.1	4.1	3.4
P/E (mg proteína Kcal <sup>-1</sup> )	71.6	63.0	55.7	47.2	40.7	8.6
P/C (mg proteína/mg carbohidrato)	0.7	0.5	0.4	0.3	0.3	0.0

a. Extracto Libre de Nitrógeno: E L N (%) = 100 - (% proteína + % lípidos + % cenizas +% fibra)

# 2.4.2 Evaluación del efecto de tres niveles de proteína (30, 23 y 17%) y dos niveles de carbohidratos (42 y 50%): (Exp. 2)

Se formularon seis dietas experimentales, tomando como referencia las dietas que presentaron un mejor resultado en el índice gonádico y el mejor valor ponderado de la calidad gonadal del ensayo anterior (Anexo D). Las dietas seleccionadas fueron la dieta PA-CB (30/42), PM-CM (23/50) y la PB-CA (17/58) con unas relaciones de Proteína / Carbohidrato de 0.7, 0.4 y 0.3, respectivamente. Se decidió evaluar los tres niveles de proteína seleccionados (30, 23 y 17%) combinados con dos niveles de carbohidratos (42 y 50%) (Tabla 7) (Anexo D). Las dietas fueron nombradas de la siguiente forma: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja carbohidrato bajo y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. Los niveles de los demás ingredientes (i.e. lípidos) se mantuvieron constantes entre las dietas y el ajuste al 100% fue realizado variando la cantidad de alfa celulosa. Para todas las dietas el 15% de la inclusión de almidón de maíz fue gelatinizado. Las dietas fueron elaboradas siguiendo la metodología descrita en la sección 2.4 y su composición bioquímica fue realizada de acuerdo a la metodología descrita en la sección 2.3.6. En esta ocasión las tiras de alimento fueron cortadas de 1 cm x 1 cm y 0.5 cm, ya que se observó en el anterior ensayo un desperdicio considerable de las piezas ofrecidas de mayor tamaño; esto también contribuyó a ofrecer mayor cantidad de piezas de alimento, sin necesidad de aumentar la cantidad en gramos, lo cual afectaría la calidad del agua.

**b.** Energía total Kcal g<sup>-1</sup> calculada con el factor de conversión para proteína de (5.6), lípidos (9.46) y E L N (4.0).

Tabla 7. Porcentaje de inclusión de los ingredientes y composición proximal (% ± DE) de las dietas, basado en 100 g de muestra seca. En dónde: Proteína alta - carbohidrato bajo (PA-CB); proteína alta - carbohidrato alto (PA-CA); proteína media - carbohidrato bajo (PM-CB); proteína media - carbohidrato alto (PM-CA); proteína baja - carbohidrato bajo (PB-CB); proteína baja - carbohidrato alto (PB-CA).

		(P	roteína /Car	bohidrato)		
	PA-CB	PA-CA	PM-CB	PM-CA	PB-CB	PB-CA
	30/42	30/50	23/42	23/50	17/42	17/50
Harina de pescado <sup>ab</sup>	38.0	36.0	27.0	27.0	18.2	18.2
Harina de Macrocystis pyrifera	19.0	15.0	13.0	13.0	9.0	9.0
Almidón de maíz	25.0	34.0	32.0	41.0	38.0	47.0
Celulosa	1.8	0.0	11.2	2.2	18.0	9.0
Aceite de pescado	2.20	2.16	2.80	2.80	2.80	2.80
Fosfolípidos/Lecitina de soya	1.30	1.26	1.30	1.30	1.30	1.30
Colesterol	0.30	0.26	0.30	0.30	0.30	0.30
Gelatina (250 blooms) <sup>c</sup>	5.00	4.60	5.00	5.00	5.00	5.00
Vitaminas y minerales <sup>de</sup>	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20
Beta carotenos <sup>f</sup>	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40
Etoxiquina	0.20	0.16	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamina C estabilizada <sup>d</sup>	0.10	0.06	0.10	0.10	0.10	0.10
Carbonato de Calcio	2.00	1.60	2.00	2.00	2.00	2.00
Hexametafosfato de Sodio	1.50	1.46	1.50	1.50	1.50	1.50
Proteína	30.1 ± 1.6	29.6 ± 0.5	$23.3 \pm 0.6$	22.6 ± 1.5	16.7 ± 0.4	16.7 ± 0.4
Lípidos	$8.0 \pm 0.3$	$7.8 \pm 1.0$	$8.4 \pm 0.5$	$7.7 \pm 0.0$	$8.3 \pm 0.1$	$7.9 \pm 0.8$
Fibra	$1.4 \pm 0.2$	$0.02 \pm 0.0$	10.7 ± 1.3	$1.7 \pm 0.7$	16.1 ± 0.7	$10.0 \pm 0.2$
ELN <sup>g</sup>	41.4 ± 2.4	$48.6 \pm 0.5$	43.5 ± 1.2	$52.6 \pm 2.0$	$43.9 \pm 0.7$	$53.3 \pm 0.2$
Cenizas	18.4 ± 0.6	$14.0 \pm 0.2$	14.1 ± 0.0	$15.4 \pm 0.7$	$15.0 \pm 0.1$	12.1 ± 0.6
Energía total Kcal g <sup>-1 h</sup>	4.1	4.4	3.8	4.1	3.5	3.8
P/E (mg proteína Kcal <sup>-1</sup> )	73.2	68.0	60.5	55.0	47.9	43.7
P/C (mg proteína/mg carbohidrato)	0.73	0.61	0.54	0.43	0.38	0.31

- a. Harina de sardina proporcionada por proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, México
- b. Desengrasada con hexano grado industrial 95%
- c. El % está incluido en la cantidad de proteínas totales
- d. Rovimx ®, Stay-C donado por DSM Guadalajara, México
- e. Mix de vitaminas y minerales (g kg<sup>-1</sup>): ácido ρ-aminobenzoico, 1.45; biotina, 0.02; mio-inositol, 14.5; ácido nicotínico, 2.9; ácido pantoténico, 1.0; pirodoxina-HCl, 0.17; riboflavina, 0.73; tiamina-HCl, 0.22; menadiona, 0.17; α-tocoferol, 1.45; cianocobalamina, 0.0003; calciferol, 0.03; L-ascorbil-2-fosfato-Mg, 0.25; ácido fólico, 0.05; cloruro de colina, 29.65; retinol, 0.015; NaCl, 1.838; MgSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O, 6.85; NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> ·2H<sub>2</sub>O, 4.36; KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> , 11.99; Ca(H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> )<sub>2</sub> ·2H<sub>2</sub>O, 6.79; Fe-citrato, 1.48; Ca-lactato, 16.35; AlCl<sub>3</sub> ·6H<sub>2</sub>O, 0.009; ZnSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O, 0.17; CuCl<sub>2</sub> , 0.0005; MnSO<sub>4</sub> ·4H<sub>2</sub>O, 0.04; KI, 0.008 y CoCl<sub>2</sub>, 0.05
- f. Beta-caroteno donado por PIVEG Comercial S.A. de C.V.
- g. Extracto Libre de Nitrógeno: E L N (%) = 100 (% proteína + % lípidos + % cenizas +% fibra)
- h. Energía total Kcal g<sup>-1</sup> calculada con el factor de conversión para proteína de (5.6), lípidos (9.46) y E L N (4.0).

# 2.4.3 Evaluación del efecto de dos niveles de aceite de pescado (0 y 3%) y tres niveles de lecitina de soya (0, 2 y 4%): (Exp. 3)

Se realizaron seis dietas experimentales con dos niveles de aceite de pescado de 0 y 3%, y tres niveles de lecitina de soya de 0, 2 y 4% (Tabla 8). Las dietas fueron formuladas con el nivel de proteína y carbohidratos (23% y 50%, respectivamente) con base en el mejor resultado obtenido del ensayo anterior (Anexo E). Las dietas fueron nombradas de la siguiente forma: BA-SL= Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya; BA-BL= bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya; BA-AL =bajo aceite de pescado - alta lecitina de soya; AA-SL= alto aceite de pescado - sin lecitina de soya; AA-BL= alto aceite de pescado - alta lecitina de soya. El ajuste de las dietas al 100% de los ingredientes se realizó utilizando tierra de diatomeas. Para todas las dietas el 15% de la inclusión de almidón de maíz fue gelatinizado. Las dietas fueron elaboradas siguiendo la metodología descrita en la sección 2.4. En esta ocasión las tiras de alimento fueron cortadas de 1 cm x 1 cm y 0.5 cm. La evaluación de la composición bioquímica fue realizada de acuerdo a la metodología descrita en la sección 2.3.6.

#### 2.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos en los distintos ensayos experimentales son presentados como promedios ± la desviación estándar (±DE) en todas las tablas y figuras. Se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Shapiro-Wilks y Barlett respectivamente (Zar, 2010).

En los experimentos de alimentación se realizó un modelo de factores fijos (Modelo I) de ANOVA de una vía en donde se tomó como factor fijo la dieta y las variables dependientes fueron, la supervivencia, la tasa de consumo diaria (TCD), la tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG), la tasa de eficiencia proteica (TEPG), el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA), el coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP), peso total, diámetro de la testa, peso gonádico, índice gonadal, calidad gonadal y la composición bioquímica de las gónadas. Los ANOVA de cada variable fueron realizados independientemente para cada periodo de muestreo, incluido la valoración inicial de cada variable en las pruebas que correspondía. Aquellas variables en dónde no se obtuvo normalidad de los datos incluso después de una transformación, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En el primer ensayo de alimentación, el tratamiento de *M. pyrifera* y los organismos extraídos del medio natural no fueron tomados en consideración para el análisis estadístico y únicamente son presentados con promedios y desviación estándar dentro de figuras y tablas con fines comparativos.

En los casos en donde se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó una prueba *a posteriori*, de comparaciones múltiples DMS (diferencia mínima significativa) de Fisher. En las variables en donde los datos obtenidos fue con porcentaje, se realizó una transformación de arco seno (Zar, 2010). Se realizaron correlaciones entre los niveles de inclusión de los macronutrientes y los atributos de las gónadas obtenidos al finalizar cada ensayo de alimentación, se tomó el valor de R para evaluar la correclación (Anexo F). Todos los procedimientos fueron realizados usando el software STATISTICA, Statsoft (2002) con un nivel de significancia de  $\alpha$  = 0.05.

Tabla 8. Porcentaje de inclusión de los ingredientes y composición proximal (% ± DE) de las dietas, basado en 100-g de muestra seca. En dónde: Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya (BA-SL); bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya (BA-BL); bajo aceite de pescado - alta lecitina de soya (BA-AL); alto aceite de pescado - sin lecitina de soya (AA-SL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-AL).

		(Proteína /	Carbohidrat	o/Lípidos/F	osfolípidos)	
	BA-SL	BA-BL	BA-AL	AA-SL	AA-BL	AA-AL
	23/50/0/0	23/50/0/2	23/50/0/4	23/50/3/0	23/50/3/2	23/50/3/4
Harina de pescado <sup>ab</sup>	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0
Harina de Macrocystis pyrifera	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0
Almidón de maíz	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
Celulosa	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	0.6
Aceite de pescado	0.0	0.0	0.0	2.1	2.1	2.0
Fosfolípidos/Lecitina de soya	0.0	3.1	5.7	0.0	3.1	5.2
Colesterol	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Gelatina (250 blooms) <sup>c</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitaminas y minerales <sup>de</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Beta carotenos <sup>f</sup>	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Etoxiquina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamina C estabilizada	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Carbonato de Calcio	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Hexametafosfato de Sodio	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Tierra de diatomeas	6.0	2.9	0.3	3.9	0.8	0.0
Proteína	23 ± 1.2	23 ± 2.4	23 ± 0.3	23 ± 0.6	23 ± 0.6	23 ± 0.3
ELN <sup>g</sup>	51 ± 2.2	53 ± 1.7	53 ± 6.1	53 ± 4.9	53 ± 0.9	53 ± 3.0
Cenizas	19 ± 0.5	16 ± 0.0	14 ± 0.2	17 ± 0.08	14 ± 0.06	13 ± 0.02
Fibra	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.4	1.3 ± 0.3	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.2	$0.6 \pm 0.03$
Lípidos Totales	6.2 ± 1.9	$8.6 \pm 0.7$	10.3 ± 0.2	$8.4 \pm 1.1$	$9.0 \pm 1.5$	9.8 ± 2.8
Lípidos no polares (g /100 g dieta)	$3.1 \pm 0.0$	$3.2 \pm 0.6$	3.3 ± 1.2	$5.6 \pm 0.8$	$3.5 \pm 0.05$	$3.2 \pm 0.02$
Lípidos polares (g /100 g dieta)	$3.1 \pm 0.0$	5.4 ± 0.6	7.0 ± 1.2	$2.9 \pm 0.8$	5.5 ± 0.05	$6.0 \pm 0.5$
Energía total Kcal g <sup>-1 h</sup>	3.9	4.2	4.4	4.2	4.2	4.3
P/E (mg proteína Kcal <sup>-1</sup> )	57.9	54.0	53.1	55.5	53.5	52.6

- a. Harina de sardina proporcionada por proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, México
- b. Desengrasada con hexano grado industrial 95%
- c. El % está incluido en la cantidad de proteínas totales
- d. Rovimx ®, Stay-C donado por DSM Guadalajara, México
- e. Mix de vitaminas y minerales (g kg<sup>-1</sup>): ácido ρ-aminobenzoico, 1.45; biotina, 0.02; mio-inositol, 14.5; ácido nicotínico, 2.9; ácido pantoténico, 1.0; pirodoxina-HCl, 0.17; riboflavina, 0.73; tiamina-HCl, 0.22; menadiona, 0.17; α-tocoferol, 1.45; cianocobalamina, 0.0003; calciferol, 0.03; L-ascorbil-2-fosfato-Mg, 0.25; ácido fólico, 0.05; cloruro de colina, 29.65; retinol, 0.015; NaCl, 1.838; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 6.85; NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 4.36; KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>, 11.99; Ca(H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 6.79; Fe-citrato, 1.48; Ca-lactato, 16.35;AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.009; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.17; CuCl<sub>2</sub>, 0.0005; MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.04; Kl, 0.008 y CoCl<sub>2</sub>, 0.05
- f. Beta-caroteno donado por PIVEG Comercial S.A. de C.V.
- g. Extracto Libre de Nitrógeno: E L N (%) = 100 (% proteína + % lípidos + % cenizas +% fibra)
- h. Energía total Kcal g<sup>-1</sup> calculada con el factor de conversión para proteína de (5.6), lípidos (9.46) y E L N (4.0).

# 3.1 Evaluación del uso de dietas con diferentes niveles de inclusión de proteínas y carbohidratos: (Exp. 1)

Para este ensayo experimental, los resultados obtenidos de los organismos que fueron alimentados con *M. pyrifera* y aquellos observados del medio natural en la semana 9, no fueron tomados en consideración para el análisis estadístico y únicamente fueron incluidos dentro de esta descripción de resultados con fines comparativos.

#### 3.1.1 Supervivencia

La supervivencia de *S. purpuratus* fue evaluada semanalmente durante todo el ensayo de alimentación (9 semanas). Se obtuvieron diferencias significativas al comparar la supervivencia de los organismos con relación a cada una de las dietas ofrecidas [F (4, 40) = 2.172; P = 0.042]. Los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) presentaron una supervivencia significativamente más baja (74.1  $\pm$  4.6%) con respecto a la supervivencia de los organismos alimentados con las otras dietas. Por su parte, el mayor valor del porcentaje de supervivencia fue obtenido en los organismos alimentados con PMB-CMA (20/54) (93.3  $\pm$  3.8%), pero no fue significativamente distinta de la supervivencia obtenida con los organismos alimentados con la dieta PM-CM (23/50) (85.9  $\pm$  7.8%), la dieta PB-CA (17/58) (91.1  $\pm$  5.9%) y los organismos alimentados con M. pyrifera (84.4  $\pm$  2.2%) (Tabla 9).

Tabla 9. Promedio  $\pm$  DE, de la supervivencia (%), diámetro de la testa (mm) y peso total (g) de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 9. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher.  $\alpha$  = 0.05.

	РА-СВ	РМА-СМВ	PM-CM	PMB-CMA	PB-CA		P valor
	30/42	26/46	23/50	20/54	17/58	M. pyrifera	
Supervivencia (%)	74.1 ± 4.6*	90.4 ± 7.1	85.9 ± 7.8	93.3 ± 3.8	91.1 ± 5.9	84.4 ± 2.2	0.04
Diámetro de la testa (mm)	30.4 ± 1.2	$30.1 \pm 0.5$	$30.6 \pm 0.6$	30.2 ± 0.9	28.3 ± 1.2	30.3 ± 2.9	0.15
Peso total (g)	35.8 ± 4.4	37.8 ± 2.7	40.5 ± 2.1	36.0 ± 2.0	35.4 ± 2.6	37.3 ± 3.2	0.10

#### 3.1.2 Crecimiento

## 3.1.2.1 Diámetro de la testa

Los organismos presentaron un DT inicial (mm  $\pm$  DE) de 32.2  $\pm$  1.4 para la dieta PA-CB (30/42); 33.4  $\pm$  1.2 para la dieta PMA-CMB (26/46); 33.9  $\pm$  1.7 para la dieta PM-CM (23/50); 33.1  $\pm$  2.3 para la dieta PMB-CMA (20/54); 31.8  $\pm$  0.6 para la dieta PB-CA (17/58) y de 33.1  $\pm$  2.5 para *M. pyrifera*. Al

comparar los DT entre los organismos alimentados con las dietas experimentales, no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las semanas de muestreo. Al finalizar el ensayo de alimentación (semana 9) el DT de los organismos restantes fue de  $30.4 \pm 1.2$  para los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42);  $30.1 \pm 0.5$  para los alimentados con la dieta PMA-CMB (26/46);  $30.6 \pm 0.5$  para los alimentados con la dieta PM-CM (23/50);  $30.2 \pm 0.9$  para los alimentados con la dieta PMB-CMA (20/54);  $28.3 \pm 1.2$  para los alimentados con la dieta PB-CA (17/58);  $30.3 \pm 2.9$  para los alimentados con M. pyrifera y de  $37.0 \pm 4.2$  para los organismos provenientes del medio natural. No se observó un incremento en el DT debido a que los organismos seleccionados aleatoriamente en la semana 6 y aquellos organismos restantes en la semana 9 se encontraron por debajo del promedio inicial del DT (Tabla 9).

### 3.1.2.2 Peso total

Al iniciar el ensayo de alimentación, el peso total (g  $\pm$  DE: 35.4  $\pm$  4) de los organismos distribuidos en todos los tanques no fue significativamente diferente entre los tratamientos [F (4, 10) = 2.61; P = 0.1]. Al finalizar el ensayo de alimentación, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en el peso total final de los organismos. Los erizos, presentaron un peso promedio inicial de 35.9  $\pm$  7.8 g y en la semana 6, el mayor promedio del peso total obtenido fue entre los organismos alimentados con la dieta PMB-CMA (20/54) (35.6  $\pm$  4.3). En la semana 9, los organismos alimentados con la dieta PM-CM (23/50) obtuvieron un mayor peso total (40.5  $\pm$  2.1 g), mientras que los erizos capturados del medio natural alcanzaron un peso total superior a todos los demás tratamientos (57.9  $\pm$  11.9 g) (Tabla 9 ).

#### 3.1.2.3 Peso húmedo de las gónadas e índice gonadal (IG)

Un incremento en el peso gonadal (g  $\pm$  DE) fue observado en todos los organismos alimentados con las diferentes dietas (Figura 11). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre las distintas dietas, en ninguno de los periodos de muestreo. Por otra parte, en comparación con las mediciones iniciales, las dietas formuladas generaron un incremento en el IG (%  $\pm$  DE) de los organismos en la semana 6 y en la semana 9. Los erizos mostraron un IG inicial de 3.3  $\pm$  1.6% y al finalizar el ensayo de alimentación los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) generaron el IG más alto (8.5  $\pm$  2.1%) (Figura 10). Se obtuvo una correlaciones significativamente baja entre la inclusión de proteína y carbohidrato vs. el PG y el IG (R = 0.3) (Anexo E, Tabla 34). Por su parte, los organismos alimentados con *M. pyrifera* y aquellos provenientes del medio natural, presentaron IG menores que los obtenidos con las dietas (4.4  $\pm$  1.5 y 3.2  $\pm$  1.5%, respectivamente).

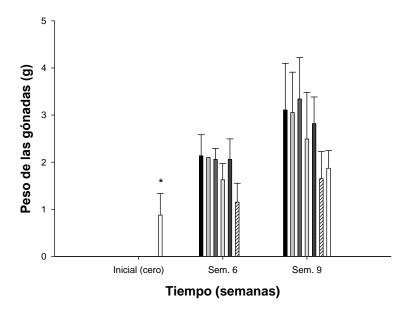


Figura 9. Peso de las gónadas (g ± DE) de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PMC-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. El asterisco indica la diferencia significativa. α = 0.05.

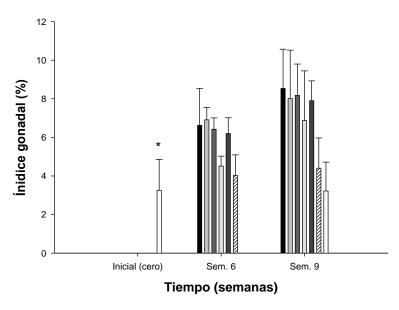




Figura 11. Crecimiento de las gónadas de *S. purpuratus* al inicio, luego de haber sido alimentado con la dieta proteína media – carbohidrato medio en la semana 6 y 9, y ejemplar colectado del medio natural en la semana 9. Se observa el crecimiento gonadal con la alimentación formulada.

#### **3.1.3** Consumo

#### 3.1.3.1 Tasa de consumo diario (TCD) y tasa de conversión alimenticia a peso gonadal (TCAG)

No se obtuvieron diferencias significativas en la TCD de los organismos alimentados con las distintas dietas [F(4, 10) = 2.97; P = 0.07]. Los organismos consumieron aproximadamente 0.5 g alimento org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> (Tabla 10). Por su parte, los erizos que fueron alimentados con la dieta PM-CM (23/50) presentaron una TCAG significativamente más baja (10.3 ± 0.3 g) que la de los organismos que fueron alimentados con las otras dietas. Mientras que la TCAG fue más alta cuando los organismos fueron alimentados con la dieta PA-CB (30/42) (14.3 ± 0.8 g) (Tabla 10). Se obtuvo una correlación significativa entre la inclusión de proteína y carbohidrato vs. TCD y TCAG de 0.39 y 0.57, respectivamente (Anexo F, Tabla 34).

#### 3.1.3.2 Tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG)

En la TEPG, todas las dietas difirieron significativamente [F (4, 30) = 1237.9; P < 0.001]; los organismos que fueron alimentados con la dieta PB-CA (17/58) presentaron una TEPG más alta que la obtenida cuando se alimentaron con las otras dietas (0.11  $\pm$  0.002 org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) y la tendencia observada fue la de una disminución de la TEPG conforme aumentaba el nivel de proteína en las dietas ofrecidas (Tabla 10). Se obtuvo una correlación significativa entre la inclusión de proteína y carbohidrato vs. TEPG de 0.96 (Anexo F, Tabla 34).

Tabla 10. Tasa de consumo diario (TCD) (g alimento consumido org-1 día-1), tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG) (g alimento consumido g incremento gonadal), tasa de eficiencia proteica (TEPG) (g incremento gonadal g de proteína consumida), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA %), y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP%) en *S. purpuratus* alimentado con cinco dietas distintas durante un periodo de nueve semanas.

	(Proteína /Carbohidrato)									
	PA-CB		PMA-CMB		PM-CM		PMB-CMA		PB-CA	
	30/42		26/46		23/50		20/54		17/58	
TCD <sup>1</sup>	0.51 ± 0.02		0.53 ± 0.02		0.55 ± 0.01		0.47 ± 0.01		$0.49 \pm 0.01$	
TCAG <sup>2</sup>	14.30 ± 0.80	Α	10.90 ± 0.40	ВС	10.30 ± 0.30	С	11.90 ± 0.80	В	11.00 ± 1.10	ВС
TEPG <sup>3</sup>	0.23 ± 0.07	D	0.35 ± 0.01	С	0.42 ± 0.08	В	$0.42 \pm 0.01$	В	0.53 ± 0.01	Α
CDA (%)	52.80 ± 5.00	С	68.50 ± 2.10	ВС	75.30 ± 2.90	Α	74.50 ± 2.00	В	73.30 ± 4.20	AB
CDAP (%)	47.90 ± 8.20	D	66.40 ± 3.60	С	84.80 ± 1.50	В	87.03 ± 10.00	AB	96.80 ± 1.20	Α

Los valores representan el promedio ( $\pm$  DE). Las letras indican las diferencias significativas entre las dietas ofrecidas. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher con un P < 0.05 o menor (A>B>C>D). En dónde: PA – CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA – CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM – CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB – CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB – CA = proteína baja - carbohidrato alto.

- 1. g alimento consumido org<sup>-1</sup> día
- 2. g alimento consumido por g incremento gonadal
- 3. g incremento gonadal por g de proteína consumida

# 3.1.3.3 Porcentaje del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y porcentaje del coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP)

Se obtuvieron diferencias significativas en el CDA entre los tratamientos [F (4, 10) = 22.02; P = 0.00006]. El CDA fue mayor cuando se alimentaron a los organismos con la dieta PM-CM (23/50) (75.3  $\pm$  2.9%) y menor cuando se alimentaron con la dieta PA-CB (30/42) (52.8  $\pm$  0.5). El CDAP reflejó diferencias significativas entre las dietas ofrecidas [F (4, 10) = 31.09; P = 0.00001]; y fue superior cuando los organismos fueron alimentados con la dieta PB-CA (17/58) (96.8  $\pm$  1.2%), seguido por los organismos alimentados con la dieta PMB-CMA (20/54) (87.03  $\pm$  10%) (Tabla 10). Se obtuvo una correlación significativa entre la inclusión de proteína y carbohidrato vs. CDA y CDAP de 0.78 y 0.93, respectivamente (Anexo F, Tabla 34).

#### 3.1.4 Calidad gonadal

#### 3.1.4.1 Textura (escala 1-4)

En comparación con los valores obtenidos de textura de las gónadas al inicio del ensayo de alimentación, únicamente se obtuvieron diferencias significativas en la semana 6 [F (5, 12) = 3.67; P = 0.03]. En dónde los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58), fueron los que produjeron las gónadas con los valores más bajos (1.33  $\pm$  0.4, mitades diferenciadas-suaves) (Figura 12). Por su parte, en la semana 9 no se obtuvieron diferencias significativas e la textura de las gónadas con las diferentes dietas (P = 0.16); aunque en esta semana los organismos alimentados con la dieta PMB-CMA (20/54), fueron los que presentaron los valores de escala de textura gonadal más altos (1.82  $\pm$  0.16, poca diferenciación-granulares) (Figura 12).

Los organismos alimentados con *M. pyrifera* presentaron una textura de las gónadas similar a la de las gónadas los organismos alimentados con las dietas PM-CM (23/50) y PMB-CMA (20/54), mientras que aquellos organismos provenientes del medio natural presentaron una textura gonadal similar a la de los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42).

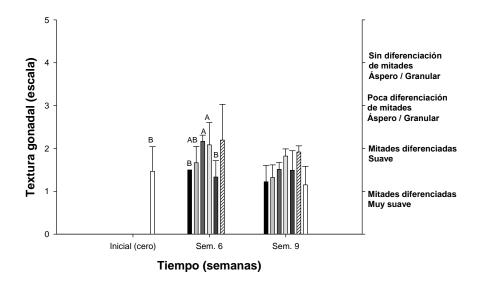


Figura 12. Escala de textura gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — *M. pyrifera*. ANOVA de una vía (inicial vs. semanas), seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6. α = 0.05

#### 3.1.4.2 Firmeza (escala 1-4)

No se obtuvieron diferencias significativas en la firmeza de las gónadas entre los organismos alimentados con las dietas y los organismos al inicio del ensayo de alimentación (P > 0.05). Sin embargo, en la semana 9, los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) generaron gónadas con mayor firmeza ( $1.1 \pm 0.1$ , muy firmes) con respecto a los otros tratamientos (Figura 13 y 14). Por su parte, los organismos alimentados con M. pyrifera presentaron una firmeza gonadal similar a la de los organismos alimentados con la dieta PM-CM (23/50) en la semana 6. En la semana 9 la firmeza gonadal fue similar a la obtenida en las gónadas de los organismos alimentados con las dietas PMA-CMB (26/46), PM-CM (23/50) y PMB-CMA (20/54), mientras que aquellos organismos provenientes del medio natural presentaron una firmeza gonadal similar a la de los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42).

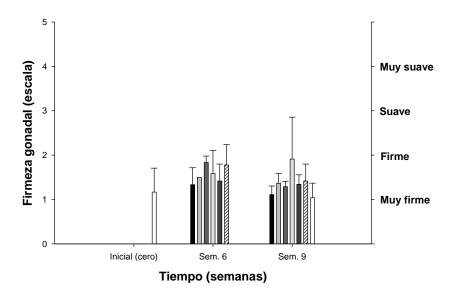


Figura 13. Escala de firmeza gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05

#### 3.1.4.3 Sabor (escala 1-5)

Los organismos generaron gónadas con diferencias significativas en su sabor al ser alimentados con las distintas dietas en la semana 6 (P = 0.04). En dónde, los erizos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) y PMA-CMB (26/46) generaron gónadas con sabores significativamente más "sosos" o de poco sabor. Al comparar los valores de la semana 6 respecto a los valores iniciales, se observó una mejora significativa en el sabor de las gónadas en los organismos alimentados con las dietas PM-CM (23/50), PMB-CMA (20/54) y PB-CA (17/58) [F (5, 22) = 4.14; P = 0.008]. Para la semana 9, no se detectaron diferencias significativas en el sabor de las gónadas entre los tratamientos ([F (5, 22) = 1.2; P = 0.34]; aunque, la tendencia registrada en la semana 6 con las dietas PM-CM (23/50), PMB-CMA (20/54) y PB-CA (17/58), permaneció constante en la semana 9 (Figura 15).

Los organismos alimentados con *M. pyrifera* presentaron un sabor de las gónadas similar a la de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 6. Sin embargo, en la semana 9, tanto los organismos alimentados con *M. pyrifera* como los obtenidos del medio natural presentaron sabor de las gónadas "sosos", similares a los obtenidos al inicio del ensayo de alimentación.

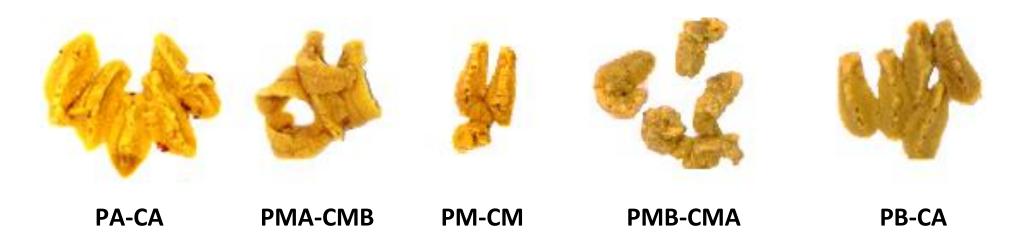


Figura 14. Ejemplares de gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las distintas dietas en la semana 9. Se logra observar la diferenciación de las mitades de cada gónada y su firmeza, excepto por la dieta PMB-CMA (menor diferenciación y menos firmeza). En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

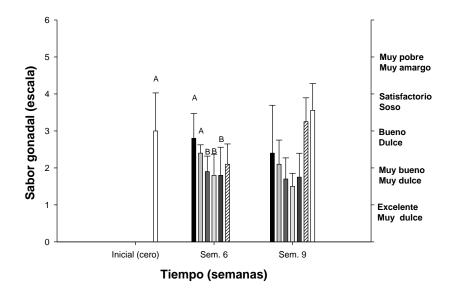


Figura 15. Escala de sabor de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas de inicial vs. semana 6 (A > B). α = 0.05.

#### 3.1.4.4 Color (escala 1-4)

La alimentación con las dietas no generó gónadas con diferencias significativas en su coloración, en ninguna de las semanas de muestreo (P = 0.35 y P = 0.33). En la semana 6, se observó una tendencia de incremento en el valor de la escala de color de las dietas de PA-CB (30/42) y PMB-CMA (20/54), mientras que la dieta PB-CA (17/58) no cambio con relación al valor inicial. En la semana 9, los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58) mantuvieron valores similares de escala de color (amarillos-anaranjados pálidos) (Figura 16). Los organismos alimentados con M. pyrifera presentaron un aumento en los valores de la escala de coloración gonadal a lo largo del ensayo de alimentación; la misma tendencia fue observada en los organismos obtenidos del medio natural en la semana 9.

#### 3.1.4.5 CIE $L^*a^*b^*$ y diferencia de color total $\Delta E_{00}$

Los valores de coloración CIE  $L^*a^*b^*$  obtenidos de las gónadas de los erizos de mar alimentados con la distintas dietas no presentaron diferencias significativas en ninguna de las semanas de muestreo, ni en comparación con los valores iniciales (P > 0.05) (Figura 17, 18 y 19). Los valores de  $L^*a^*yb^*$  de las gónadas de los organismos alimentados con M. pyrifera fueron similares a los de los organismos alimentados con las dietas; mientras que los organismos obtenidos del medio natural en la semana 9, presentaron gónadas menos luminosas (< 30%), con menor matiz y croma ( $\sim 10$  y  $\sim 20\%$ , respectivamente).

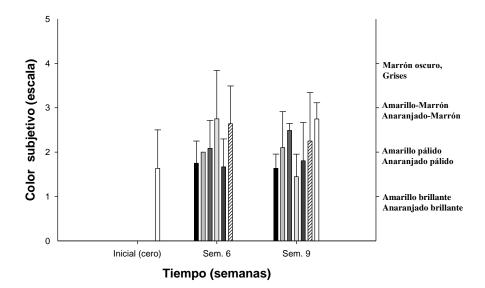


Figura 16. Escala de color gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: \_\_\_\_\_ medio natural; \_\_\_\_ PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; \_\_\_\_ PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; \_\_\_\_ PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; \_\_\_\_ PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; \_\_\_\_ PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y \_\_\_\_ *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05

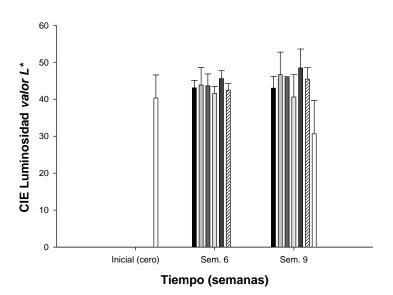


Figura 17. Valores de luminosidad *L\** en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — M. pyrifera. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05

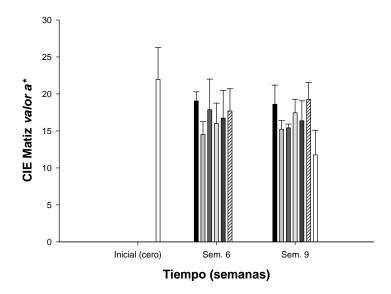


Figura 18. Valores de matiz *a\** en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — M. pyrifera. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05

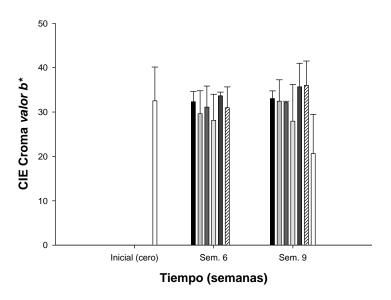


Figura 19. Valores de croma *b\** en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: — medio natural; — PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; — PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; — PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; — PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y — *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05

No se encontraron diferencias significativas en los valores de la diferencia de color total  $\Delta E_{00}$  entre los tratamientos. En general, la coloración de las gónadas presentó una mayor similitud con la carta de color 12 (amarillo-anaranjado) (Figura 20 y 21). Para ambos tiempos de muestreo y para ambas cartas de color (8 y 12), los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58) fueron próximos a

una coloración estándar relacionada con la carta de color 12 (Figura 21). Los organismos alimentados con *M. pyrifera* presentaron valores similares a las de los organismos alimentados con las dietas; y aquellos organismos obtenidos del medio natural presentaron coloraciones gonadales muy alejadas de las cartas de color estándar.

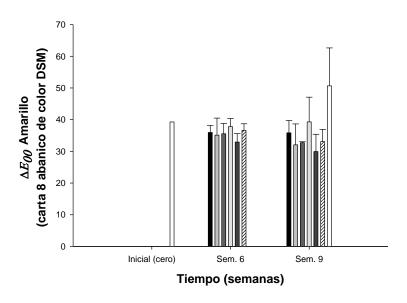


Figura 20. Diferencia de color total  $\Delta E_{00}$  Amarillo (carta 8) en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde: medio natural; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas.  $\alpha = 0.05$ 

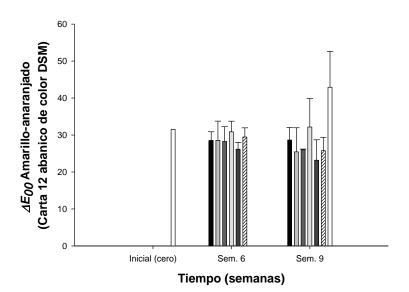


Figura 21. Diferencia de color total ΔΕ<sub>00</sub> Amarillo-anaranjado (carta 12) en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las nueve semanas del ensayo de alimentación. En donde:

medio natural; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto y *M. pyrifera*. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05

#### 3.1.5 Composición bioquímica de las gónadas de S. purpuratus

#### 3.1.5.1 Análisis proximal de las gónadas de S. purpuratus

La composición proximal de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales y con *M. pyrifera* se muestran en la Tabla 11. Al comparar los resultados de la composición proximal de las gónadas en la semana 6 con la de los organismos iniciales, se obtuvieron diferencias significativas en todos los nutrientes exceptuando a las cenizas.

Las gónadas de los organismos al inicio, presentaban una cantidad de proteínas significativamente más baja (21.8  $\pm$  2.2 g por 100 g de gónada seca) (Tabla 11) que los organismos alimentados con las dietas experimentales [F (5, 12) = 5.03; P = 0.01]. En la semana 6, no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de proteínas de las gónadas entre los organismos alimentados con las dietas, mientras que en la semana 9, la dieta PMB-CMA (20/54) generó las gónadas con mayor cantidad de proteína (49.7  $\pm$  3.4 g por 100 g de gónada seca). Los lípidos incrementaron significativamente en las gónadas de los organismos al ser alimentados con las dietas exceptuando aquellos organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58) en la semana 6 [F (5, 12) = 26.2; P = 0.0000]; esta misma dieta continuó generando las gónadas con la menor cantidad de lípidos en la semana 9 (12.2  $\pm$  3.6 g por 100 g de gónada seca).

La cantidad de ELN en las gónadas al iniciar el ensayo de alimentación fue alta (Tabla 11); en la semana 6 y 9 se mantuvo de esta forma en los organismos que fueron alimentados con la dieta PB-CA (17/58), y en los organismos extraídos del medio natural en la semana 9. Se obtuvo una correlación significativamente alta entre la inclusión de proteína y carbohidrato vs. la cantidad de lípidos en gónada y el ELN de 0.58 y 0.61, respectivamente (Anexo F, Tabla 34).

#### 3.1.5.2 Contenido de ácidos grasos de las gónadas de S. purpuratus

La gónadas de *S. purpuratus* presentaron una acumulación de ácidos grasos (Ag) totales en las gónadas al ser alimentados con las dietas experimentales (Tabla 12). Los organismos que fueron alimentados con la dieta PM-CM (23/50) y la dieta PMA-CMB (26/46) generaron gónadas con una mayor cantidad de Ag totales (41.9  $\pm$  0.99 y 40.4  $\pm$  3.3 mg Ag por g de gónada seca, respectivamente) con respecto a las gónadas de los organismos al inicio del experimento y con relación a los organismos alimentados con las otras dietas experimentales.

La mayoría de ácidos grasos en las gónadas se acumularon significativamente en relación a la cantidad obtenida de Ag en las gónadas al inicio del experimento. Se obtuvieron diferencias altamente significativas [F(5, 10) = 707.78; P = 0.0000)] en el total de ácidos grasos saturados (SFA).

Los organismos que fueron alimentados con la dieta PMA-CMB (26/46) generaron gónadas con mayor cantidad de SFA, representados principalmente por los SFA 14:0 y 16:0.

Se encontraron diferencias significativas en los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) entre los distintos tratamientos [F (5, 10) = 60.75; P = 0.0000)]. En dónde, los organismos alimentados con las dietas PMA-CMB (26/46) y PM-CM (23/50) generaron gónadas con mayores cantidades de MUFA ( $5.9 \pm 1.09$  y  $6.03 \pm 0.28$  mg Ag por g de gónada seca, respectivamente); estos valores fueron representados en su mayor parte por el MUFA 18: 1n-9.

En los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se encontró una mayor acumulación en los organismos alimentados con la dieta PM-CM (23/50) (15.1  $\pm$  0.76 mg Ag por g de gónada seca), representado en su mayor parte por los PUFA n-6. Por su parte, los ácidos grasos como el ARA, EPA y DHA, se obtuvieron en mayor cantidad en las gónadas de los organismos que fueron alimentados con las dietas PA-CB (30/42), PMA-CMB (26/46) y PM-CM (23/50) (Tabla 12).

Tabla 11. Composición proximal (g de nutriente por cada 100 g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales y *M. pyrifera* a la sexta y novena semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB – CA = proteína baja - carbohidrato alto.

Semana 6		Inicial		PA-CB (30/42)		PMA-CMB (26/46)		PM-CM (23/50)		PMB-CMA (20/54)		PB-CA (17/58)		M. pyrifera
Proteínas		21.8 ± 2.2	В	38.6 ± 5.8	Α	41.3 ± 5.5	Α	39.9 ± 4.2	Α	41.8 ± 6.5	Α	34.1 ± 8.8	Α	39.4 ± 11.5
Lípidos		2.7 ± 0.7	В	15.8 ± 4.4	AB	24.1 ± 5.6	Α	19.6 ± 0.4	AB	19.1 ± 1.4	AB	2.2 ± 1.1	В	10.1 ± 0.3
Cenizas		3.5 ± 2.1	ns	$0.7 \pm 0.3$	ns	$0.6 \pm 0.1$	ns	$0.7 \pm 0.6$	ns	$2.7 \pm 3.3$	ns	$1.2 \pm 0.8$	ns	1.8 ± 0.5
ELN*		72.0 ± 0.7	Α	44.9 ± 1.1	В	34.0 ± 2.3	С	39.7 ± 3.3	ВС	36.5 ± 6.0	С	62.5 ± 8.6	Α	48.7 ± 11.3
Semana 9	Inicial	PA-CB (30/42)		PMA-CMB (26/46)		PM-CM (23/50)		PMB-CMA (20/54)		PB-CA (17/58)		M. pyrifera		Medio natural**
Proteínas	E	44.4 ± 6.9	В	43.9 ± 4.2	В	39.2 ± 1.7	ВС	49.7 ± 3.4	Α	30.7 ± 5.5	D	40.3 ± 5.3		17.0 ± 5.7
Lípidos	D	24.5 ± 3.0	Α	17.5 ± 2.7	ВС	21.5 ± 4.2	AB	20.1 ± 3.7	AB	12.2 ± 3.6	С	12.2 ± 0.5		10.9 ± 2.1
Cenizas	ns	2.4 ± 0.7	ns	$2.0 \pm 0.5$	ns	1.7 ± 0.7	ns	2.1 ± 0.9	ns	2.3 ± 1.0	ns	6.3 ± 1.9		$0.6 \pm 0.3$
ELN*	Α	28.8 ± 6.5	D	36.6 ± 2.1	CD	37.8 ± 3.5	С	28.1 ± 4.1	D	54.9 ± 7.7	В	41.2 ± 7.4		75.1 ± 10.1

<sup>\*</sup> Extracto Libre de Nitrógeno: E L N = 100 - (proteína + lípidos + cenizas).\*\* Organismos provenientes del medio natural en la semana 9. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras mayúsculas indican las diferencias significativas de inicial vs. semana (A > B > C > D).  $\alpha$  = 0.05. ns = no significativo. *M. pyrifera* y Medio natural no incluidos en el ANOVA.

Tabla 12. Contenido de ácidos grasos (Ag) (mg Ag por cada g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y novena semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

	Inicial		PA-CB		PMA-CMB		PM-CM		PMB-CMA		PB - CA	
			(30/42)		(26/46)		(23/50)		(20/54)		(17/58)	
Ácidos graso	s saturados (SFA)											
12:0	0.003 ± 0.00		ND		ND		ND		ND		ND	
13:0	$0.003 \pm 0.00$	D	$0.50 \pm 0.10$	Α	$0.37 \pm 0.05$	В	$0.34 \pm 0.00$	В	$0.11 \pm 0.04$	С	$0.02 \pm 0.00$	CD
14:0	$0.59 \pm 0.01$	F	$4.58 \pm 0.11$	С	$6.92 \pm 0.40$	Α	6.36 ± 0.37	В	$1.20 \pm 0.19$	Ε	$1.82 \pm 0.21$	D
15:0	$0.04 \pm 0.00$	С	$0.12 \pm 0.01$	В	$0.14 \pm 0.00$	Α	ND	D	$0.02 \pm 0.02$	D	$0.05 \pm 0.00$	CD
16:0	$0.99 \pm 0.00$	F	$6.45 \pm 0.07$	С	8.65 ± 0.02	В	9.07 ± 0.06	Α	$1.84 \pm 0.04$	E	$2.70 \pm 0.10$	D
18:0	$0.16 \pm 0.00$	D	$0.96 \pm 0.11$	В	$1.18 \pm 0.15$	Α	1.39 ± 0.25	Α	$0.28 \pm 0.01$	CD	$0.41 \pm 0.08$	С
20:0	$0.04 \pm 0.00$	С	$0.15 \pm 0.00$	В	$0.21 \pm 0.03$	В	$0.21 \pm 0.04$	В	$0.06 \pm 0.01$	С	$0.42 \pm 0.04$	Α
22:0	$0.18 \pm 0.16$	ns	ND		$0.10 \pm 0.00$		ND		ND		$0.08 \pm 0.13$	ns
24:0	$0.09 \pm 0.02$	В	2.78 ± 0.11	Α	3.34 ± 0.87	Α	3.28 ± 0.04	Α	0.65 ± 0.00	В	0.71 ± 0.05	В
Ácidos graso	s monoinsaturados (M	UFA)										
14:1	$0.04 \pm 0.00$	В	$0.53 \pm 0.01$	Α	$0.61 \pm 0.18$	Α	$0.58 \pm 0.11$	Α	$0.13 \pm 0.03$	В	$0.14 \pm 0.03$	В
15:1	ND		ND		$0.43 \pm 0.00$		ND		ND		ND	
16:1	0.15 ± 0.02	D	$1.23 \pm 0.09$	В	$1.64 \pm 0.38$	Α	1.66 ± 0.15	Α	$0.35 \pm 0.05$	CD	$0.48 \pm 0.05$	D
17:1	$0.09 \pm 0.03$	С	$0.27 \pm 0.04$	В	$0.13 \pm 0.02$	С	0.46 ± 0.05	Α	$0.07 \pm 0.02$	С	$0.08 \pm 0.03$	С
18:1 <i>n</i> -9	$0.19 \pm 0.05$	D	$1.83 \pm 0.09$	В	$2.61 \pm 0.48$	Α	2.63 ± 0.11	Α	0.56 ± 0.05	CD	$0.72 \pm 0.08$	С
22:1 <i>n</i> -9	$0.08 \pm 0.07$	С	$0.60 \pm 0.08$	Α	$0.55 \pm 0.08$	Α	0.71 ± 0.05	Α	$0.21 \pm 0.03$	В	$0.28 \pm 0.01$	В
24:1 <i>n</i> -9	$0.05 \pm 0.00$	Α	ND		ND		ND		ND		ND	

Continuación Tabla 10

	Inicial		PA-CB (30/42)		PMA-CMB (26/46)		PM-CM (23/50)		PMB-CMA (20/54)		PB-CA (17/58)	
Ácidos grasos po	liinsaturados (PU	FA)					• • •		• • •		• • •	
18:2 <i>n</i> -6 trans	$0.08 \pm 0.01$	D	$1.20 \pm 0.09$	В	1.73 ± 0.47	Α	1.92 ± 0.02	Α	$0.34 \pm 0.06$	CD	$0.49 \pm 0.09$	С
18:2 <i>n</i> -6 <sub>Cis</sub>	ND		0.76 ± 0.02	В	$0.06 \pm 0.01$	Ε	1.98 ± 0.00	Α	$0.23 \pm 0.02$	D	$0.32 \pm 0.04$	С
20:2 <i>n</i> -6	$0.19 \pm 0.06$	D	1.94 ± 0.06	В	2.42 ± 0.21	Α	1.94 ± 0.53	В	$0.59 \pm 0.04$	CD	$0.79 \pm 0.07$	С
18:3 <i>n</i> -6	$0.03 \pm 0.00$	В	$0.06 \pm 0.01$	Α	$0.06 \pm 0.01$	Α	$0.06 \pm 0.01$	Α	$0.02 \pm 0.00$	В	$0.04 \pm 0.02$	В
20:3 <i>n</i> -6	$0.08 \pm 0.03$	В	$0.41 \pm 0.02$	Α	$0.41 \pm 0.13$	Α	$0.48 \pm 0.07$	Α	$0.08 \pm 0.01$	В	$0.06 \pm 0.01$	В
20:4 <i>n</i> -6 (ARA)	$0.66 \pm 0.06$	В	1.71 ± 0.13	Α	1.77 ± 0.34	Α	1.95 ± 0.08	Α	$0.48 \pm 0.06$	В	$0.82 \pm 0.21$	В
$\Sigma$ Omega 6	1.05 ± 0.05	D	$6.08 \pm 0.12$	В	$6.45 \pm 0.89$	В	8.33 ± 0.40	Α	1.74 ± 0.01	CD	2.51 ± 0.20	С
18:3 <i>n</i> -3	0.11 ± 0.01	В	0.35 ± 0.02	Α	0.43 ± 0.09	Α	0.44 ± 0.05	Α	0.11 ± 0.01	В	0.15 ± 0.02	В
20:3 <i>n</i> -3	$0.06 \pm 0.01$	ns	$0.26 \pm 0.04$	ns	$0.31 \pm 0.07$	ns	0.20 ± 0.28	ns	$0.08 \pm 0.00$	ns	$0.12 \pm 0.01$	n
20:5 <i>n</i> -3 (EPA)	0.99 ± 0.08	D	4.55 ± 0.03	В	5.88 ± 0.29	Α	5.79 ± 0.01	Α	1.15 ± 0.05	D	1.67 ± 0.15	s C
22:6 <i>n</i> -3 (DHA)	$0.06 \pm 0.01$	В	$0.33 \pm 0.02$	Α	$0.35 \pm 0.08$	Α	$0.35 \pm 0.02$	Α	$0.08 \pm 0.00$	В	$0.11 \pm 0.01$	В
$\Sigma$ Omega 3	1.22 ± 0.06	D	$5.49 \pm 0.10$	В	6.98 ± 0.42	Α	6.77 ± 0.36	Α	1.42 ± 0.05	D	2.05 ± 0.17	С
Total SFA	2.13 ± 0.17	E	15.62 ± 0.06	В	21.01 ± 1.08	Α	20.77 ± 0.05	В	4.17 ± 0.28	D	6.23 ± 0.32	С
Total MUFA	$0.60 \pm 0.12$	D	$4.46 \pm 0.13$	В	5.97 ± 1.09	Α	$6.03 \pm 0.28$	Α	$1.31 \pm 0.07$	CD	$1.70 \pm 0.13$	С
Total PUFA	2.27 ± 0.12	D	11.57 ± 0.09	С	13.43 ± 1.19	В	15.10 ± 0.76	Α	$3.16 \pm 0.04$	D	4.56 ± 0.36	С
Total Ag	$5.00 \pm 0.18$	Ε	31.65 ± 0.16	В	40.42 ± 3.30	Α	41.90 ± 0.99	Α	$8.64 \pm 0.32$	D	12.50 ± 0.19	С
$\Sigma$ n-3/ $\Sigma$ n-6	1.16		0.90		1.08		0.81		0.82		0.82	

ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican diferencias significativas de inicial vs. semana 9 (A > B > C > D).  $\alpha$  = 0.05. ND = No detectado, ns = no significativo.

#### 3.1.5.3 Contenido de aminoácidos totales de las gónadas de S. purpuratus

La cantidad total de aminoácidos (AA) de las gónadas de los erizos alimentados con las distintas dietas varió significativamente [F (5, 10) = 10.7; P = 0.0009)] (Tabla 13). Se obtuvó que las dietas a excepción de PB-CA (17/58), produjeron una acumulación en la cantidad total de aminoácidos en las gónadas; en dónde la dieta PMB-CMA (20/54) generó la mayor acumulación  $(376.3 \pm 59 \text{ mg AA por g}$  de gónada seca), seguido por la dieta PA-CB (30/42)  $(361.6 \pm 16.6 \text{ mg AA por g}$  de gónada seca).

En la cantidad total de aminoácidos dulces (i.e. serina, glicina, treonina, alanina y prolina), no se obtuvieron diferencias significativas entre las gónadas de los organismos alimentados con las dietas ofrecidas con relación a los valores iniciales [F(5, 10) = 2.38; P = 0.11)]. Sin embargo, se obtuvó una acumulación significativa de glicina en las gónadas con las dietas experimentales. De igual forma, ocurrió con la serina, exceptuando en las gónadas de aquellos organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58).

Por su parte, la cantidad total de aminoácidos promotores de sabor umami (i.e. Aspartato y glutamato), se acumularon significativamente en las gónadas de los organismos alimentados con las diferentes dietas [F (5, 10) = 9.50; P = 0.0014)]; en dónde las cantidades de glutamato fueron más altas que las de aspartato. Finalmente, la cantidad total de aminoácidos promotores de sabores amargos (i.e. histidina, arginina, tirosina, cisteína, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina y lisina) se encontraron en mayor cantidad que los aminoácidos promotores de sabor dulce y umami. Los aminoácidos promotores de sabor amargo se acumularon significativamente en las gónadas con relación a los valores iniciales. La dieta PMB-CMA (20/54) resultó en generar una mayor acumulación de estos aminoácidos en las gónadas [F (5, 10) = 9.76; P = 0.0013)] (Tabla 13). En dónde, aminoácidos como la arginina, cisteína, isoleucina, leucina y lisina se acumularon en mayor proporción.

#### 3.1.6 Condición reproductiva de *S. purpuratus*

En este ensayo de alimentación, se evaluó la condición reproductiva únicamente de los organismos restantes al finalizar el experimento de alimentación. La condición reproductiva (%) de los erizos se encontró en estadio I de desarrollo en la mayoría de los organismos alimentados con las dietas y aquellos provenientes del medio natural. El estadio II fue encontrado en un 28% en los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58), 8% en los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) y PM-CM (23/50), y en un 7% en los organismos alimentados con la dieta PMB-CMA (20/54). Los organismos provenientes del medio natural fueron los únicos en donde se observó el estadio V de desarrollo en un 7% (Figura 22).

Tabla 13. Contenido de aminoácidos (mg AA por g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y novena semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

Aminoácido	Inicial		PA - CB (30/42)		PMA-CMB (26/46)		PM-CM (23/50)		PMB - CMA (20/54)		PB-CA (17/58)	
Serina+	8.1 ± 6.2	С	16.8 ± 1.0	Α	16.9 ± 1.2	Α	16.1 ± 2.0	AB	17.4 ± 2.5	Α	9.9 ± 3.7	ВС
Glicina+	$1.3 \pm 0.4$	В	12.3 ± 0.7	Α	11.9 ± 0.4	Α	11.1 ± 1.6	Α	11.7 ± 1.3	Α	6.6 ± 2.6	Α
Treonina+	21.7 ± 6.6	ns	27.9 ± 2.0	ns	22.9 ± 4.7	ns	29.5 ± 5.6	ns	26.3 ± 0.8	ns	22.7 ± 0.3	ns
Alanina+	11.2 ± 2.9	ns	10.6 ± 0.9	ns	10.1 ± 1.3	ns	9.1 ± 0.9	ns	10.3 ± 0.8	ns	$6.1 \pm 0.7$	ns
Prolina+	12.7 ± 5.3	ns	13.7 ± 1.9	ns	11.7 ± 1.2	ns	11.0 ± 1.4	ns	15.2 ± 3.2	ns	8.2 ± 0.1	ns
Total+	54.9 ± 4.3	ns	81.3 ± 1.3	ns	73.5 ± 1.8	ns	76.8 ± 2.3	ns	80.8 ± 1.7	ns	53.5 ± 1.5	ns
Aspartato*	18.4 ± 6.6	С	32.5 ± 2.5	Α	32.0 ± 1.9	Α	28.4 ± 3.8	В	28.9 ± 5.8	Α	20.3 ± 0.7	ВС
Glutamato*	34.8 ± 8.5	С	59.1 ± 2.7	AB	53.2 ± 10.2	В	53.7 ± 4.0	В	69.5 ± 6.5	Α	$38.9 \pm 7.3$	ВС
Total*	53.2 ± 7.6	В	91.5 ± 2.6	Α	85.3 ± 6.1	Α	82.1 ± 3.9	Α	98.4 ± 6.2	Α	59.2 ± 4.0	В
Histidina**	15.9 ± 7.0	ns	10.3 ± 0.6	ns	8.1 ± 3.3	ns	8.8 ± 1.3	ns	9.1 ± 1.7	ns	5.3 ± 2.9	ns
Arginina**	3.7 ± 1.1	С	34.6 ± 7.4	В	35.2 ± 17.3	В	32.6 ± 3.9	В	53.6 ± 12.6	Α	47.0 ± 4.7	В
Tirosina**	32.3 ± 1.4	Α	9.3 ± 1.7	С	8.8 ± 2.3	С	$6.0 \pm 0.0$	D	12.4 ± 1.1	В	6.7 ± 0.9	CD
Cisteína**	$3.9 \pm 0.3$	С	25.7 ± 1.3	Α	30.4 ± 9.7	Α	23.7 ± 2.7	AB	27.9 ± 1.9	Α	15.7 ± 4.1	В
Valina**	$1.9 \pm 0.1$	С	12.5 ± 0.6	Α	14.8 ± 4.7	Α	11.5 ± 1.3	AB	13.6 ± 0.9	Α	7.7 ± 2.0	В
Metionina**	3.5 ± 1.0	С	10.8 ± 1.1	В	10.2 ± 2.4	В	9.9 ± 0.4	В	14.3 ± 2.6	Α	7.7 ± 0.8	В
Fenilalanina**	4.8 ± 1.5	В	11.6 ± 1.9	Α	6.8 ± 0.2	AB	9.5 ± 1.4	Α	21.0 ± 9.1	Α	12.4 ± 2.9	Α
Isoleucina**	13.7 ± 5.7	ns	23.2 ± 2.5	ns	18.3 ± 4.5	ns	$21.0 \pm 0.0$	ns	24.5 ± 6.5	ns	16.0 ± 2.3	ns
Leucina**	$7.4 \pm 0.2$	В	25.3 ± 2.1	Α	21.3 ± 4.7	Α	21.6 ± 3.4	Α	23.9 ± 4.3	Α	14.5 ± 4.6	Α
Lisina**	12.4 ± 2.1	В	25.4 ± 1.7	Α	25.0 ± 1.9	Α	22.0 ± 3.5	Α	23.4 ± 2.2	Α	13.2 ± 4.6	В
Total **v	99.6 ± 6.9	С	188.7 ± 3.6	В	179.1 ± 8.0	В	166.6 ± 4.3	В	223.7 ± 7.2	Α	146.2 ± 5.1	В
Total AA	197.3 ± 12.7	С	361.6 ± 16.6	AB	335.6 ± 29.2	В	325.5 ± 26.7	ВС	376.3 ± 59.0	Α	258.9 ± 29.8	С

<sup>+</sup> Sabor dulce, \*Sabor umami,\* \* Sabor amargo. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras mayúsculas indican las diferencias significativas de inicial vs. semana 9. (A > B > C > D). α = 0.05. ND = No detectado, ns = no significativo.

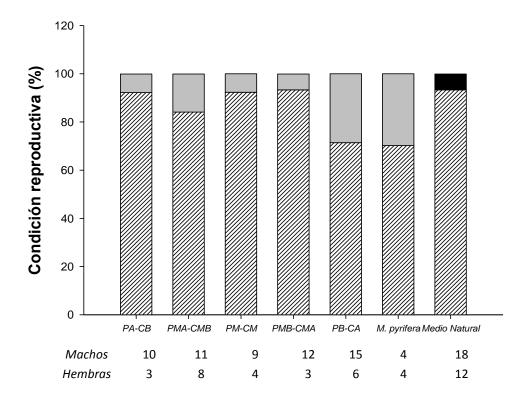


Figura 22. Condición reproductiva (%) y cantidad de machos y hembras de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales a la novena semana de alimentación. En donde: Estadio I; Estadio II; estadio II;

# 3.2 Evaluación del efecto de tres niveles de proteína (30, 23 y 17%) y dos niveles de carbohidratos (42 y 50%): (Exp. 2)

# 3.2.1 Supervivencia

La supervivencia de los organismos difirió significativamente entre las dietas ofrecidas [F (5, 12) = 4.0960; P = 0.0015)]. Los erizos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) presentaron una supervivencia significativamente menor (73.3 ± 13.3%), mientras que los organismos alimentados con las otras dietas exhibieron una supervivencia superior al 93% y no fueron significativamente diferentes entre sí (Tabla 14).

Tabla 14. Promedio  $\pm$  DE, de la supervivencia (%), diámetro de la testa (mm) y peso total (g) de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 12. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. En dónde: Proteína alta - carbohidrato bajo (PA-CB); proteína alta - carbohidrato alto (PA-CA); proteína media - carbohidrato bajo (PM-CB); proteína media - carbohidrato alto (PM-CA); proteína baja - carbohidrato bajo (PB-CB); proteína baja - carbohidrato alto (PB-CA).  $\alpha$  = 0.05.

	PA-CB 30/42	PA-CA 30/50	PM-CB 23/42	PM-CA 23/50	PB-CB 17/42	PB-CA 17/50	P valor
Supervivencia (%)	95.6 ± 3.8	73.3 ± 13.3*	93.3 ± 11.5	95.6 ± 3.8	95.6 ± 3.8	95.6 ± 7.7	0.001
Diámetro de la testa (mm)	34.1 ± 3.1	33.4 ± 2.7	35.1 ± 4.3	34.8 ± 5.1	33.3 ± 3.2	35.7 ± 3.1	0.3
Peso total (g)	52.8 ± 8.4	52.8 ± 9.0	57.1 ± 13.3	58.2 ± 14.5	51.5 ± 8.0	59.2 ± 12.7	0.2

#### 3.2.2 Crecimiento

#### 3.2.2.1 Diámetro de la testa

Los organismos presentaron un DT inicial (mm  $\pm$  DE) de 34.3  $\pm$  0.8 para los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42); 32.9  $\pm$  1.5 para los alimentados con la dieta PA-CA (30/50); 34.2  $\pm$  1.5 para los alimentados con la dieta PM-CB (23/42); 34.4  $\pm$  0.7 para los alimentados con la dieta PM-CA (23/50); 33.9  $\pm$  1.9 para los alimentados con la dieta PB-CA (17/50); 33.7  $\pm$  2.0 para los alimentados con la dieta PB-CB (17/42). Al comparar los DT entre los organismos alimentados con las dietas experimentales, no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las semanas de muestreo (P > 0.4). Al finalizar el ensayo de alimentación (semana 12) el DT promedio (mm  $\pm$  DE) de los organismos restantes fue de 34.1  $\pm$  8.4 para los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42); 33.4  $\pm$  2.7 para los alimentados con la dieta PA-CA (30/50); 35.1  $\pm$  4.2 para los alimentados con la dieta PM-CB (23/42); 34.8  $\pm$  5.1 para los alimentados con la dieta PM-CA (23/50); 33.3  $\pm$  3.2 para los alimentados con la dieta PB-CB (17/42) (Tabla 14).

#### 3.2.2.2 Peso total

Al inicio del ensayo de alimentación el peso total (g  $\pm$  DE: 44.4  $\pm$  4) de los organismos no fue significativamente diferente entre los tratamientos [F (5, 12) = 0.61; P = 0.7]. No se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna de las semanas de muestreo (P > 0.2). La dieta que generó el mayor peso total de los erizos al finalizar el ensayo (semana 12) fue la dieta PB-CA (17/50) con 59.2  $\pm$  12.6 g (Tabla 14).

#### 3.2.2.3 Peso húmedo de las gónadas e índice gonadal (IG)

No se obtuvieron diferencias significativas entre las distintas dietas ofrecidas en el peso húmedo de las gónadas de los erizos (g  $\pm$  DE) en ninguno de los periodos de muestreo (P > 0.05) (Figura 23 y 25). Las gónadas de S. purpuratus presentaron un peso húmedo inicial de  $5.6 \pm 2.8$  g. El peso gonadal más alto fue observado en las semanas 9 y 12 en los organismos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) ( $6.9 \pm 0.75$  g y  $8.5 \pm 0.6$  g, respectivamente). Por su parte, el IG incrementó en los organismos alimentados con todas las dietas en comparación con el IG inicial ( $8.8 \pm 4.5$  %). En la semana 6, los erizos alimentados con la dieta PB-CA (17/50) generaron gónadas con un IG significativamente bajo (P < 0.0001). Al finalizar el ensayo de alimentación (semana 12), la dieta PM-CB (23/42) continuó generando los menores valores de IG mientras que la dieta PA-CA (30/50) generó los mayores índices ( $15.9 \pm 0.9$ %) (Figura 24). Se obtuvieron correlaciones bajas (i.e. 0.1) en relación a la cantidad de proteína y carbohidratos vs. el PG y el IG (Anexo F, Tabla 35 y Tabla 36).

#### 3.2.3 Consumo

# 3.2.3.1 Tasa de consumo diario (TCD) y tasa de conversión alimenticia a peso gonadal (TCAG)

La TCD de los organismos fue significativamente diferente entre las dietas ofrecidas [F (5, 12) = 3.49; P = 0.03]; los organismos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) presentaron un consumo de alimento mayor (0.7 ± 0.2 g alimento seco consumido org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). Mientras que los organismos que fueron alimentados con las otras dietas consumieron aproximadamente la misma cantidad de alimento. Por su parte, la menor TCAG se observó en los erizos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) (4.4 ± 0.5 g alimento consumido por g de incremento gonadal) (3.2.3.2). Se obtuvo una correlación significativa entre la inclusión de proteína vs. TCD de 0.59 (Anexo F, Tabla 35).

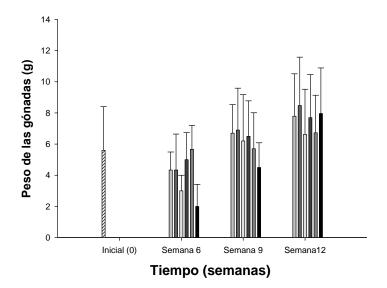


Figura 23. Peso de las gónadas (g ±DE) de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05.

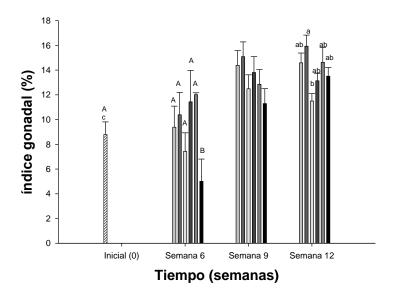


Figura 24. Índice gonadal (% ± DE) de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6, letras minúsculas entre inicial vs. semana 9. α = 0.05.

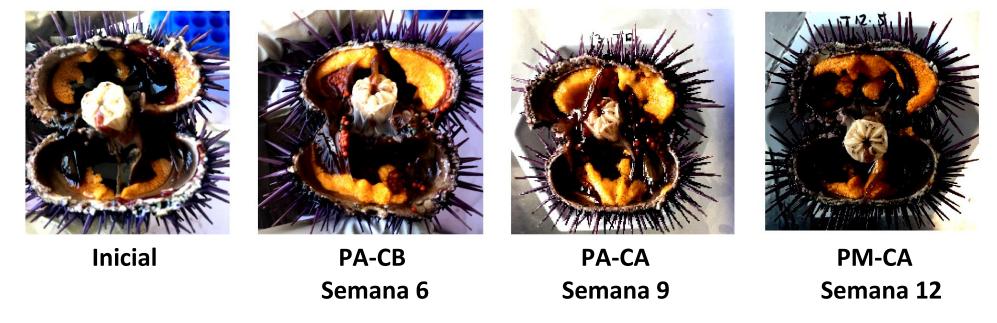


Figura 25. Crecimiento de las gónadas de *S. purpuratus* al inicio, luego de haber sido alimentado con la dieta PA-CB (proteína alta – carbohidrato bajo) en la semana 6, PA-CA (proteína alta – carbohidrato alto) en la semana 9 y PM-CA (proteína media – carbohidrato alto) en la semana 12. Se observa el crecimiento gonadal con la alimentación formulada.

#### 3.2.3.2 Tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG)

La TEPG de los organismos fue significativamente diferente entre las dietas ofrecidas; los organismos que consumieron las dietas con la menor cantidad de proteína presentaron eficiencias más altas que los que fueron alimentados con las demás dietas (3.2.3.2) y la correlación más alta fue obtenida con el nivel de inclusión de proteína (R= 0.69).

# 3.2.3.3 Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP)

Se obtuvieron diferencias significativas en el CDA entre los tratamientos [F (5, 12) = 19.75; P < 0.00001]. El CDA fue mayor cuando los organismos fueron alimentados con la dieta PA-CA (30/50) (96.4  $\pm$  1.7 %), mientras que el CDAP fue significativamente menor cuando la cantidad de proteína en era del 30% (3.2.3.2). Se obtuvo una correlación con el nivel de inclusión de proteína vs CDAP (R= 0.74).

Tabla 15. Tasa de consumo diario (TCD) (g alimento consumido org-1 día-1), tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG) (g alimento consumido g incremento gonadal), tasa de eficiencia proteica (TEPG) (g incremento gonadal g de proteína consumida), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA %), y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP%) en *S. purpuratus* alimentado con seis dietas distintas durante un periodo de 12 semanas.

					Proteín	a /	Carbohidrat	:0				
	PA-CB 30/42		PA-CA 30/50		PM-CB 23/42		PM-CA 23/50		PB-CB 17/42		PB-CA 17/50	
TCD <sup>1</sup>	0.5 ± 0.05	В	0.8 ± 0.2	Α	0.6 ± 0.1	В	0.6 ± 0.1	В	0.5 ± 0.0	В	0.5 ± 0.0	В
TCAG <sup>2</sup>	5.8 ± 0.82	С	4.4 ± 0.5	D	12.7 ± 1.1	Α	7.9 ± 1.0	В	5.2 ± 0.2	CD	6.5 ± 0.5	С
TEPG <sup>3</sup>	$0.4 \pm 0.04$	С	$0.4 \pm 0.1$	С	$0.3 \pm 0.0$	D	$0.4 \pm 0.1$	С	$0.9 \pm 0.1$	Α	$0.7 \pm 0.0$	В
CDA (%)	84.1 ± 0.97	С	96.4 ± 1.7	Α	77.5 ± 6.1	D	80.7 ± 4.1	CD	89.4 ± 0.2	В	82.4 ± 2.5	CD
CDAP (%)	27.8 ± 7.84	С	31.2 ± 9.3	С	45.6 ± 5.0	В	46.4 ± 5.9	В	95.4 ± 7.5	Α	50.9 ± 7.3	В

Los valores representan el promedio ( $\pm$  DE). Las letras indican las diferencias significativas entre las dietas ofrecidas. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher con un P < 0.05 o menor (A>B>C>D). En dónde: PA – CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA – CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM – CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM – CA = proteína media - carbohidrato bajo; PB – CB = proteína baja - carbohidrato bajo y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

- 1. g alimento consumido org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>
- 2. g alimento consumido por g de incremento gonadal
- 3. g incremento gonadal por g de proteína consumida

## 3.2.4 Calidad gonadal

#### 3.2.4.1 Textura (escala 1-4)

Los valores de textura de la gónada de los erizos disminuyeron significativamente en el ensayo de alimentación con relación a los valores iniciales (P < 0.005). Aunque no se obtuvieron diferencias significativas en ningún periodo de muestreo en la textura de las gónadas de los erizos alimentados con las diferentes dietas, las gónadas pasaron de ser "granulares" y no tener diferenciación de las mitades a ser "muy suaves" y con diferenciación. En la semana 12, los erizos alimentados con la dieta

PB-CA (17/50) presentaron una mejor textura de las gónadas en comparación con las gónadas de los erizos alimentados con las otras dietas (1.15  $\pm$  0.1) (Figura 26).

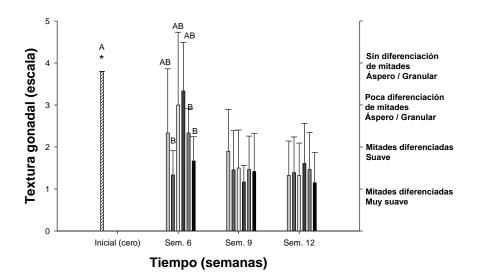


Figura 26. Escala de textura gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6, el asterisco indica la diferencia significativa entre inicial vs semana 9 y 12. α = 0.05.

#### 3.2.4.2 Firmeza (escala 1-4)

Las mediciones de firmeza gonadal indicaron que los organismos al inicio del ensayo de alimentación presentaban gónadas con características " muy suaves" con una escala promedio de  $3.7 \pm 0.14$ . En las semanas 6 y 9 de muestreo, la dieta PM-CA (23/50) generó en los erizos gónadas significativamente "firmes" con relación a los valores iniciales; sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos. Al concluir la semana 12 de alimentación, la firmeza de las gónadas de los erizos alimentados con las distintas dietas fue significativamente diferente de los valores iniciales. Los erizos que fueron alimentados con la dieta PA-CA (30/50), mostraron gónadas significativamente más firmes que aquellos organismos alimentados con las otras dietas (Figura 27).

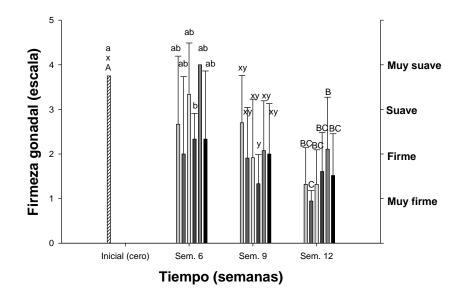


Figura 27. Escala de firmeza gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (a > b) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6; las letras (x > y) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 9; las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

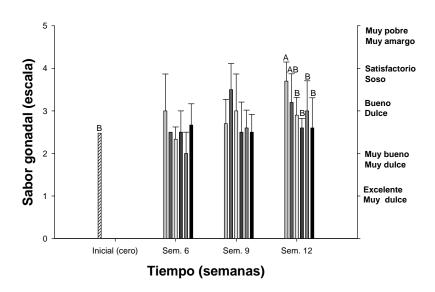


Figura 28. Escala de sabor de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

#### 3.2.4.3 Sabor (escala 1-5)

En general, los valores de sabor de las gónadas no presentaron diferencias significativas en ninguno de los periodos de muestreo con relación a los valores iniciales. Los valores de sabor de las gónadas incrementaron al alimentar a los organismos con las dietas formuladas. Los erizos presentaron una escala inicial promedio de sabor de las gónadas de  $2.5 \pm 0.15$ ; en la semana 12, los erizos que fueron alimentados con la dieta PM-CA (23/50) y la dieta PB-CA (17/50) presentaron los menores valores ( $2.6 \pm 0.1$ ) y aquellos organismos alimentados con las dietas PA-CB (30/42) y PA-CA (30/50) produjeron gónadas con sabores "sosos-satisfactorio" y "bueno-dulce", respectivamente (Figura 28). Se obtuvo una mayor correlación del sabor de las gónadas con relación al nivel de proteína (10.47) que en relación al nivel de carbohidrato (10.47) (10.47

### 3.2.4.4 Color (escala 1-4)

La escala de color de las gónadas al inicio del ensayo fue de  $2.8 \pm 0.15$ , la cual fue significativamente diferente de las gónadas de los organismos alimentados con las dietas PM-CA (23/50) y PB-CB (17/42) en la semana 9. La escala de valores de color gonadal tendió a disminuir hacia la semana 9 y 12 por efecto de la alimentación con las dietas. Sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el color de las gónadas en ningún periodo de muestreo entre los organismos alimentados con las distintas dietas. Los menores valores de coloración de las gónadas al finalizar el ensayo, fueron obtenidos cuando los organismos fueron alimentados con la dieta PB-CA (17/50) (1.33  $\pm$  0.9) (Figura 29).

#### 3.2.4.5 CIE $L^*a^*b^*y$ differencia de color total $\Delta E_{00}$

El valor inicial de  $L^*$  (±DE) en las gónadas de los erizos fue de 56.9 ± 2.1, el cual disminuyó a lo largo de ensayo de alimentación. No se obtuvieron diferencias significativas en los valores de luminosidad de las gónadas entre los tratamientos. En la semana 12, el valor más alto de  $L^*$  fue obtenido en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PM-CA (23/50) (55.1 ± 6.5) (Figura 30). Por su parte, los valores de  $a^*$  de las gónadas tendieron a incrementar conforme avanzó el ensayo de alimentación, únicamente los organismos alimentados con la dieta PM-CB (23/42) en la semana 6 generaron valores diferente de matiz de las gónadas con relación al valor inicial. El valor inicial de matiz gonadal fue de 12.9 ± 0.1, e incrementó en los erizos que fueron alimentados con la dieta PB-CB (17/42) en las semanas 6 y 12 a 17.7 ± 4.6 y 15.7 ± 4.6, respectivamente. Adicionalmente, en la semana 9, los erizos que fueron alimentados con la dieta PM-CA (23/50) presentaron valores de matiz de las gónadas altos (18.5 ± 3.7), mientras que los organismos que fueron alimentados con la dieta PA-CA (30/50) generaron gónadas con los valores más bajos de  $a^*$  en la semana 12 (12.2 ± 4.5) (Figura 31).

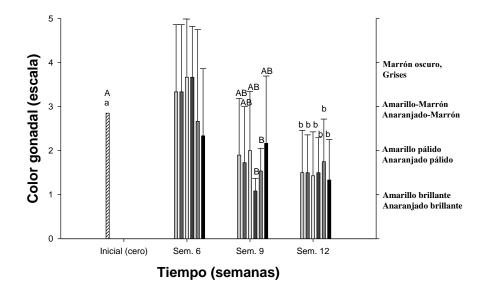


Figura 29. Escala de color gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 9. Las letras (a > b) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

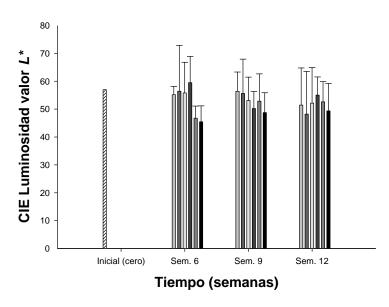


Figura 30. Valores de luminosidad *L\** gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta-carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas. α = 0.05.

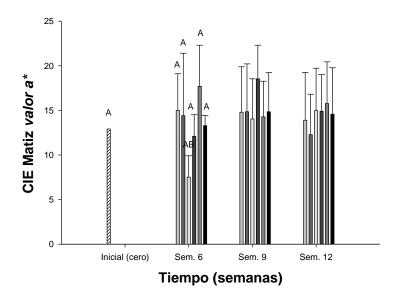


Figura 31. Valores de matiz  $a^*$  gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6.  $\alpha$  = 0.05.

Los valores de croma  $b^*$  de las gónadas de los erizos presentaron diferencias significativas en la semana 12 del ensayo de alimentación entre los distintos tratamientos. En donde, los organismos que fueron alimentados con la dieta PM-CB (23/42) y con la dieta PM-CA (23/50) presentaron los valores más altos de  $b^*$  (38.1 ± 12 y 38.5 ± 8, respectivamente) (Figura 32).

En general, el color de las gónadas presentó mayor similitud con la carta de color amarilloanaranjado (Carta 12), en donde fueron obtenidos los menores valores de  $\Delta E_{00}$ . En la semana 12, se obtuvieron diferencias significativas con ambas cartas de color. Los erizos que consumieron la dieta PM-CA (23/50) presentaron gónadas con coloraciones con mayor similitud a la carta 8, con un promedio de  $\Delta E_{00}$  de 24.1  $\pm$  6.0 (Figura 33), y a la carta 12 con valores de  $\Delta E_{00}$  de 18.4  $\pm$  5.3 (Figura 34).

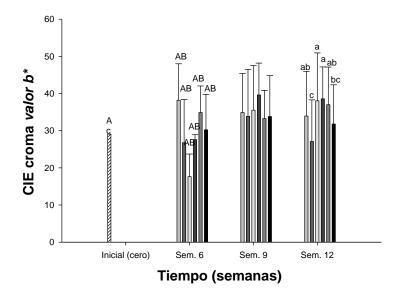


Figura 32. Valores de croma *b\** gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 6 las letras (a > b > c) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

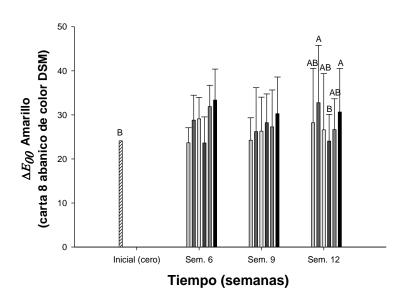


Figura 33. Diferencia de color total  $\Delta E_{00}$  Amarillo (carta 8) en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12.  $\alpha$  = 0.05.

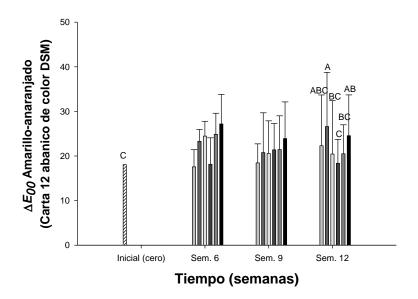


Figura 34. Diferencia de color total ΔΕ<sub>00</sub> Amarillo-anaranjado (carta 12) en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

#### 3.2.5 Composición bioquímica de las gónadas de S. purpuratus

#### 3.2.5.1 Análisis proximales de las gónadas de S. purpuratus

La composición proximal de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales se muestran en la Tabla 16. Al comparar los resultados de la composición proximal de las gónadas en la semana 6 con la de los organismos iniciales, se obtuvieron diferencias significativas únicamente en la cantidad de lípidos totales. Los organismos que fueron alimentados con la dieta PA-CA (30/50) y PB-CA (17/50) generaron las gónadas con mayor cantidad de lípidos, en comparación con los organismos al inicio del ensayo y con los organismos que fueron alimentados con las otras dietas.

En la semana 9, la cantidad de proteínas fue significativamente mayor en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PM-CB (23/42) (47.0  $\pm$  0.8 g por 100 g de gónada seca), mientras que la cantidad de lípidos y cenizas se mantuvo sin diferencias significativas. La cantidad del ELN obtenida en las gónadas al inicio del ensayo y la de las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) se mantuvieron significativamente más altas (> 58 g por 100 g de gónada seca).

Al finalizar el ensayo de alimentación, la mayor cantidad de proteínas en gónada fue obtenida en los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/50) ( $45.1 \pm 4.2$  g por 100 g de gónada seca); de igual

forma ocurrió con la cantidad total de lípidos (6.2  $\pm$  0.2 g por 100 g de gónada seca). El ELN disminuyó significativamente en las gónadas de los organismos alimentados con la mayoría de las dietas a excepción de los alimentados con la dieta PB-CB (17/42) (Tabla 16).

Las correlaciones indicaron mayor relación de los niveles de inclusión de proteína en dieta con la cantidad de lípidos en gónada (R=0.85), mientras que la inclusión de carbohidratos en dieta presentó mayor relación con los niveles de cenizas en gónada (R= 0.4) (Anexo F, Tabla 35 y 36).

#### 3.2.5.2 Contenido de ácidos grasos de las gónadas de S. purpuratus

Se observó un cambio significativo en la cantidad de ácidos grasos totales de las gónadas de S. purpuratus alimentado con las dietas experimentales [F (6, 14) = 47.06; P = 0.0000)] (Tabla 17). En dónde los organismos que fueron alimentados con la dieta PM-CB (23/42) presentaron la mayor cantidad de ácidos grasos totales en gónada (33.5  $\pm$  0.06 mg Ag por g de gónada seca).

En relación a la cantidad de ácidos grasos saturados (SFA) en gónada, se obtuvieron diferencias altamente significativas [F (6, 14) = 29.7; P = 0.0000)] de estos ácidos grasos en las gónadas de los organismos alimentados con las distintas dietas. En donde los erizos que fueron alimentados con la dieta PM-CB (23/42) generaron gónadas con mayor cantidad de SFA, representados principalmente por los SFA 14:0 y 16:0.

Se encontraron diferencias significativas en los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) en gónada de los erizos alimentados con las distintas dietas [F(5, 10) = 10.4; P = 0.0002)]. En dónde, los organismos alimentados con las dietas PA-CA (30/50), PM-CB (23/42) y PM-CA (23/50) generaron las gónadas con mayores cantidades de estos ácidos grasos, acumulando en su mayor parte los MUFA 16:1, 18: 1n-9 y 20: 1.

En los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se encontraron significativamente más altos en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PM-CB (23/42) (12.91  $\pm$  0.37 mg Ag por g de gónada seca), representado en su mayor parte por la cantidad de ácidos grasos PUFA n-3, en específico el PUFA 20: 5n-3 (EPA). Los ácidos grasos como el ARA y el DHA, se acumularon en mayor cantidad en las gónadas de los organismos que fueron alimentados con las dietas PM-CB (23/42) y PA-CA (30/50), respectivamente (Tabla 17).

Tabla 16. Composición proximal (g de nutriente por cada 100 g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales, al inicio, sexta, novena y doceava semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas. α = 0.05.

_		PA-CB		PA-CA		PM-CB		PM-CA		PB-CB		PB-CA	
Semana 6	Inicial	(30/42)		(30/50)		(23/42)		(23/50)		(17/42)		(17/50)	
Proteínas	35.7 ± 2.1 ns	38.2 ± 1.4	ns	34.8 ± 1.2	Ns	40.3 ± 3.2	ns	39.0 ± 3.5	ns	38.8 ± 4.3	ns	36.7 ± 2.2	ns
Lípidos	$3.5 \pm 0.4$ B	$4.6 \pm 0.4$	В	$6.5 \pm 0.4$	Α	$4.7 \pm 0.4$	В	$4.1 \pm 0.9$	В	4.5 ± 1.1	В	$6.2 \pm 0.3$	Α
Cenizas	$0.3 \pm 0.1$ ns	$0.4 \pm 0.0$	ns	$0.6 \pm 0.2$	Ns	$0.4 \pm 0.0$	ns	$0.5 \pm 0.1$	ns	$0.4 \pm 0.1$	ns	$0.7 \pm 0.3$	ns
ELN	60.4 ± 1.8 ns	56.9 ± 1.3	ns	58.1 ± 1.5	Ns	54.5 ± 3.0	ns	56.3 ± 3.2	ns	56.3 ± 4.5	ns	56.4 ± 1.7	ns
	Inicial	PA-CB		PA-CA		PM-CB		PM-CA		PB-CB		PB-CA	
Semana 9		(30/42)		(30/50)		(23/42)		(23/50)		(17/42)		(17/50)	
Proteínas	С	44.4 ± 5.5	AB	35.8 ± 2.2	С	47.0 ± 0.8	Α	39.3 ± 0.9	ВС	42.1 ± 2.1	В	40.4 ± 2.0	В
Lípidos	ns	4.7 ± 1.1	ns	$5.3 \pm 0.4$	Ns	4.5 ± 0.9	ns	6.3 ± 1.3	ns	$4.3 \pm 0.6$	ns	$5.0 \pm 0.3$	ns
Cenizas	ns	$0.6 \pm 0.1$	ns	$0.5 \pm 0.0$	Ns	$0.5 \pm 0.0$	ns	$0.5 \pm 0.0$	ns	$0.6 \pm 0.1$	ns	$0.5 \pm 0.1$	ns
ELN	Α	50.3 ± 4.5	ВС	58.4 ± 2.5	Α	$48.0 \pm 0.1$	С	53.8 ± 0.9	В	53.0 ± 1.8	В	54.1 ± 2.0	В
	lui-i-i-l	PA-CB		PA-CA		PM-CB		PM-CA		PB-CB		PB-CA	
Semana 12	Inicial	(30/42)		(30/50)		(23/42)		(23/50)		(17/42)		(17/50)	
Proteínas	С	41.9 ± 1.9	AB	44.4 ± 8.3	Α	41.8 ± 0.5	AB	40.6 ± 1.1	ABC	36.9 ± 0.4	ВС	45.1 ± 4.2	Α
Lípidos	CD	$4.4 \pm 0.7$	ВС	$3.6 \pm 0.2$	D	$4.8 \pm 0.1$	В	$4.5 \pm 0.3$	ВС	5.5 ± 0.3	Α	$6.2 \pm 0.2$	Α
Cenizas	С	$1.6 \pm 0.0$	В	$2.2 \pm 0.2$	Α	1.9 ± 0.2	AB	$2.2 \pm 0.3$	Α	1.9 ± 0.5	AB	$1.9 \pm 0.5$	AB
ELN	Α	52.1 ± 2.4	ВС	49.7 ± 8.5	ВС	51.4 ± 0.6	ВС	52.7 ± 1.0	ВС	55.7 ± 0.6	AB	46.8 ± 3.8	С

<sup>\*</sup> Extracto Libre de Nitrógeno: ELN = 100 - (proteína + lípidos + cenizas). ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas de inicial vs. dieta (A > B > C>D). α = 0.05. ns = no significativo.

Tabla 17. Contenido de ácidos grasos (Ag) (mg Ag por cada g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

	Inicial		PA-CB (30/42)		PA-CA (30/50)		PM-CB (23/42)		PM-CA (23/50)		PB-CB (17/42)		PB-CA (17/50)	
Ácidos grasos sa	turados (SFA)													
14:0	3.63 ± 0.07	С	3.00 ± 0.09	D	3.31 ± 0.26	В	4.01 ± 0.07	Α	4.69 ± 0.07	AB	4.04 ± 0.06	Ε	3.27 0.02	D
15:0	$0.11 \pm 0.00$	С	$0.11 \pm 0.02$	С	$0.13 \pm 0.00$	В	0.17 ± 0.00	Α	$0.13 \pm 0.00$	В	$0.13 \pm 0.00$	В	$0.12 \pm 0.00$	ВС
16:0	4.74 ± 0.12	CD	4.84 ± 0.81	CD	6.09 ± 0.14	В	7.14 ± 0.09	Α	6.18 ± 0.09	В	5.25 ± 0.04	С	4.52 ± 0.12	D
18:0	0.73 ± 0.04	С	$0.81 \pm 0.13$	ВС	1.03 ± 0.03	AB	1.10 ± 0.01	Α	1.06 ± 0.02	AB	0.96 ± 0.01	В	0.75 ± 0.01	ВС
20:0	$0.14 \pm 0.00$	С	1.05 ± 0.20	В	$1.26 \pm 0.13$	В	$1.35 \pm 0.10$	Α	1.31 ± 0.02	AB	1.26 ± 0.03	В	1.36 ± 0.33	Α
22:0	$0.38 \pm 0.33$	Α	$0.00 \pm 0.00$	В	$0.02 \pm 0.03$	В	$0.05 \pm 0.04$	В	$0.06 \pm 0.00$	В	0.05 ± 0.00	В	$0.04 \pm 0.04$	ВС
Ácidos grasos m	onoinsaturados (MUI	FA)												
14:1	0.43 ± 0.01	Α	0.27 ± 0.05	D	$0.30 \pm 0.00$	D	0.39 ± 0.01	В	0.36 ± 0.01	С	0.25 ± 0.00	D	$0.26 \pm 0.01$	D
15:1	0.01 ± 0.02	ns	$0.00 \pm 0.00$	ns	$0.00 \pm 0.00$	Ns	0.02 ± 0.03	ns	0.02 ± 0.03	ns	$0.00 \pm 0.00$	ns	$0.01 \pm 0.00$	ns
16:1	0.76 ± 0.02	Ε	$0.91 \pm 0.01$	С	$1.03 \pm 0.02$	В	1.20 ± 0.02	Α	1.04 ± 0.01	В	0.87 ± 0.01	D	$0.78 \pm 0.02$	Е
17:1	$0.11 \pm 0.10$	С	0.11 ± 0.07	С	$0.30 \pm 0.06$	AB	0.36 ± 0.06	Α	0.34 ± 0.05	AB	0.24 ± 0.02	ВС	$0.19 \pm 0.02$	С
18:1 <i>n</i> -9	$0.88 \pm 0.18$	С	1.09 ± 0.37	ВС	$1.28 \pm 0.03$	AB	$1.43 \pm 0.01$	Α	1.25 ± 0.02	AB	1.03 ± 0.01	ВС	0.94 ± 0.02	С
20:1	1.07 ± 0.05	С	1.13 ± 0.22	ВС	1.70 ± 0.42	Α	1.57 ± 0.08	Α	1.44 ± 0.02	AB	1.16 ± 0.03	ВС	1.41 ± 0.27	ABC
22:1 <i>n</i> -9	$0.29 \pm 0.26$	ns	0.52 ± 0.08	ns	0.56 ± 0.02	Ns	$0.70 \pm 0.01$	ns	1.06 ± 0.88	ns	0.55 ± 0.03	ns	$0.45 \pm 0.02$	ns
24:1 <i>n</i> -9	0.09 ± 0.09	D	0.22 ± 0.03	С	0.32 ± 0.06	ВС	$0.46 \pm 0.00$	Α	0.35 ± 0.12	AB	0.33 ± 0.08	ВС	0.43 ± 0.05	AB

Continuación Tabla 14

	Inicial		PA-CB (30/42)		PA-CA (30/50)		PM-CB (23/42)		PM-CA (23/50)		PB-CB (17/42)		PB-CA (17/50)	
Ácidos grasos polii	nsaturados (PLIFA	)	(00) 12)		(50,50)		(==) :=)		(20,00)		(=-7 :=7		(27,00)	
18:2 <i>n</i> -6 trans	0.16 ± 0.14	, D	0.70 ± 0.12	С	0.92 ± 0.02	В	1.12 ± 0.01	Α	1.11 ± 0.01	Α	1.04 ± 0.01	АВ	0.94 ± 0.03	В
18:2 <i>n-</i> 6 <i>Cis</i>	$0.00 \pm 0.00$	C	$0.05 \pm 0.01$	AB	$0.06 \pm 0.00$	A	0.05 ± 0.03	A	0.06 ± 0.00	Α	0.05 ± 0.00	A	0.02 ± 0.02	BC
20:2 <i>n</i> -6	0.22 ± 0.01	В	0.29 ± 0.19	В	0.80 ± 0.37	A	$0.58 \pm 0.10$	AB	0.46 ± 0.06	AB	0.57 ± 0.28	AB	$0.65 \pm 0.24$	A
18:3 <i>n</i> -6	$0.22 \pm 0.01$ $0.06 \pm 0.01$	A	$0.29 \pm 0.19$ $0.04 \pm 0.01$	BC	0.80 ± 0.37 0.03 ± 0.00	CD	$0.04 \pm 0.00$	ABC	0.40 ± 0.00 0.03 ± 0.01	BCD	$0.37 \pm 0.28$ $0.04 \pm 0.01$	AB	$0.03 \pm 0.24$ $0.02 \pm 0.00$	D
						_		_		_				
20:3 <i>n</i> -6	$0.17 \pm 0.00$	F	$0.20 \pm 0.01$	Ε	$0.28 \pm 0.02$	В	$0.32 \pm 0.01$	Α	$0.30 \pm 0.01$	В	$0.26 \pm 0.00$	С	0.22 ± 0.01	D
20:4 <i>n</i> -6 (ARA)	$0.30 \pm 0.00$	С	$0.35 \pm 0.01$	BC	$0.31 \pm 0.01$	С	$0.46 \pm 0.02$	Α	$0.33 \pm 0.01$	С	$0.36 \pm 0.02$	В	$0.36 \pm 0.02$	В
$\Sigma$ Omega 6	$0.92 \pm 0.15$	С	$1.63 \pm 0.10$	В	$2.40 \pm 0.33$	Α	$2.56 \pm 0.11$	Α	$2.28 \pm 0.08$	Α	$2.33 \pm 0.25$	Α	$2.22 \pm 0.24$	Α
18:3 <i>n</i> -3	$0.30 \pm 0.02$	ВС	$0.30 \pm 0.05$	ВС	$0.30 \pm 0.00$	С	$0.41 \pm 0.01$	Α	$0.36 \pm 0.00$	AB	$0.34 \pm 0.00$	В	$0.27 \pm 0.02$	С
20:3 <i>n</i> -3	2.86 ± 0.08	Α	$2.13 \pm 0.33$	С	2.51 ± 0.06	В	$2.97 \pm 0.10$	Α	2.75 ± 0.03	AB	2.54 ± 0.02	В	1.89 ± 0.05	С
20:5 <i>n</i> -3 (EPA)	2.64 ± 0.07	Ε	3.02 ± 0.47	D	4.32 ± 0.15	В	4.69 ± 0.15	Α	4.31 ± 0.10	В	3.80 ± 0.03	С	3.01 ± 0.10	D
22:6 <i>n</i> -3 (DHA)	0.07 ± 0.01	G	1.83 ± 0.01	D	2.49 ± 0.08	Α	2.28 ± 0.04	В	2.01 ± 0.03	С	1.68 ± 0.03	Е	1.43 ± 0.05	F
$\Sigma$ Omega 3	5.87 ± 0.15	F	7.29 ± 0.84	D	9.61 ± 0.30	В	10.35 ± 0.27	Α	9.43 ± 0.13	В	8.36 ± 0.05	С	6.61 ± 0.21	Ε
Ü														
Total SFA	9.73 ± 0.53	С	10.12 ± 1.40	ВС	12.53 ± 0.11	AB	14.49 ± 0.15	Α	12.78 ± 0.15	AB	10.92 ± 0.10	В	9.78 ± 0.21	С
Total MUFA	3.65 ± 0.41	В	4.25 ± 0.77	В	5.48 ± 0.29	Α	6.12 ± 0.12	Α	5.86 ± 0.88	Α	4.43 ± 0.13	В	4.47 ± 0.26	В
Total PUFA	6.79 ± 0.27	Ε	8.92 ± 0.84	D	12.02 ± 0.25	В	12.91 ± 0.37	Α	11.71 ± 0.18	В	10.69 ± 0.24	С	8.83 ± 0.34	D
Total Ag	20.17 ± 0.00	D	23.29 ± 2.91	D	30.03 ± 0.00	В	33.52 ± 0.60	Α	30.35 ± 1.20	В	26.03 ± 0.00	С	23.08 ± 0.14	D
$\Sigma$ n-3/ $\Sigma$ n-6	6.42		4.47		4.01		4.03		4.13		3.59		2.98	

ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican diferencias significativas de Inicial vs. Semana 12 (A > B > C > D). α = 0.05. ns= no significativo

#### 3.2.5.3 Contenido de aminoácidos totales de las gónadas de S. purpuratus

La cantidad total de aminoácidos de las gónadas de los erizos alimentados con las distintas dietas varió significativamente [F (6, 14) = 11.77; P = 0.0009)] (Tabla 18). Se observó que las dietas PM-CA (23/50) y PB-CB (17/42) no generaron una acumulación significativa en la cantidad de aminoácidos de las gónadas con relación a la cantidad de aminoácidos en las gónadas al inicio del experimento, mientras que la dieta PB-CA (17/50) generó la mayor acumulación de aminoácidos totales (405.6  $\pm$  20.2 mg AA g de gónada seca $^{-1}$ ), seguido por la dieta PA-CA (30/50) (395.5  $\pm$  18.4 mg AA por g de gónada seca).

La mayor cantidad total de aminoácidos dulces (i.e. serina, glicina, treonina, alanina y prolina) fue obtenida en las gónadas de los erizos alimentados con las dietas PA-CA (30/50) y PB-CA (17/50), representado en mayor cantidad por la glicina. En esta categoría, la treonina no presentó cambios significativos en las gónadas de los organismos alimentados con las distintas dietas, mientras que la glicina disminuyó significativamente en las gónadas de los organismos alimentados con las distintas dietas con relación a la cantidad de aminoácidos obtenida en las gónadas al inicio del experimento. Por su parte, la cantidad total de aminoácidos promotores de sabor umami (i.e. aspartato y glutamato), se acumularon significativamente en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/50) [F (6, 14) = 5.60; P = 0.004)], en dónde la cantidad de glutamato fue superior a la de aspartato.

La cantidad total de aminoácidos promotores de sabores amargos (i.e. histidina, arginina, tirosina, cisteína, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina y lisina) únicamente se encontró en mayor cantidad que la suma de los totales de aminoácidos promotores de sabor dulce y umami en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42), mientras que en las gónadas de los organismos alimentados con las otras dietas la suma del total de aminoácidos promotores de sabor dulce y umami fue superior a la cantidad total de aminoácidos amargos. Las gónadas de los organismos alimentados con las dietas PA-CB (30/42), PA-CA (30/50) y PB-CA (17/50) presentaron mayor acumulación de aminoácidos promotores de sabor amargo [F (6, 14) = 8.77; P = 0.004)] (Tabla 18), en donde la metionina, fenilalanina y leucina no difirieron con relación a la cantidad de aminoácidos obtenida al inicio del experimento.

# 3.2.6 Condición reproductiva de S. purpuratus

Al inicio del ensayo de alimentación, el 68% de los organismos se encontraron en estadio IV del ciclo gametogénico, el 26% en estadio III, y solo a un organismo no fue posible realizarle la valoración del ciclo. En la semana 6, la mayor cantidad de organismos se encontraban en estadios I y III de

desarrollo gametogénico. Hacia la semana 9 de alimentación, los organismos se encontraban distribuidos en mayor proporción en el estadio I y estadio II de desarrollo, mientras que los organismos que fueron alimentados con las dietas de proteína media y baja, registraron la presencia de individuos con estadio IV y V de desarrollo. En la semana 12, los organismos se encontraban entre el estadio V y I, siendo los organismos alimentados con la dieta PB-CB (17/42) los que presentaron la mayor cantidad de organismos en estadio V (71%) (Figura 35).

Tabla 18. Contenido de aminoácidos (mg AA por g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato alto; PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA= proteína baja - carbohidrato alto.

Aminoácido	Inicial		PA-CB		PA-CA		PM-CB		PM-CA		PB-CB		PB-CA	
			(30/42)		(30/50)		(23/42)		(23/50)		(17/42)		(17/50)	
Serina+	16.2 ± 0.4	CD	17.6 ± 0.5	С	19.0 ± 0.7	AB	18.1 ± 0.4	В	17.0 ± 1.8	CD	16.0 ± 0.4	С	20.2 ± 0.6	Α
Glicina+	$38.8 \pm 0.5$	Α	25.5 ± 1.7	D	28.3 ± 1.0	С	25.2 ± 0.6	D	27.3 ± 1.3	С	$24.7 \pm 0.7$	D	$31.0 \pm 0.5$	В
Treonina+	19.2 ± 1.8	ns	23.6 ± 3.1	ns	25.8 ± 2.6	ns	19.4 ± 3.5	ns	20.7 ± 2.9	ns	20.2 ± 0.5	ns	23.5 ± 2.8	ns
Alanina+	$13.7 \pm 0.1$	D	15.6 ± 0.5	BCD	17.0 ± 0.8	ВС	$15.7 \pm 0.3$	BCD	18.5 ± 4.2	Α	$14.2 \pm 0.4$	ВС	$17.8 \pm 0.7$	AB
Prolina+	10.2 ± 0.6	С	16.8 ± 2.9	В	22.3 ± 1.5	Α	16.8 ± 3.1	В	12.9 ± 3.6	С	12.9 ± 0.5	С	17.7 ± 0.2	В
Total+	98.2 ± 1.7	В	99.1 ± 8.0	В	112.3 ± 4.9	Α	95.2 ± 5.1	ВС	96.5 ± 4.2	В	88.0 ± 2.2	С	110.1 ± 2.0	Α
Aspartato*	$31.3 \pm 0.8$	В	31.1 ± 1.1	ВС	31.8 ± 1.2	В	30.7 ± 1.6	ВС	31.1 ± 1.3	ВС	29.4 ± 0.6	С	35.8 ± 0.5	Α
Glutamato*	54.5 ± 0.9	С	55.2 ± 1.9	ВС	57.3 ± 4.3	ВС	59.4 ± 1.9	ВС	61.9 ± 6.1	AB	54.6 ± 1.8	С	66.7 ± 7.4	Α
Total*	85.8 ± 1.4	ВС	86.4 ± 1.8	ВС	89.1 ± 5.1	ВС	90.1 ± 2.0	ВС	93.1 ± 6.7	В	84.1 ± 2.4	С	102.6 ± 7.8	Α
Histidina**	$6.6 \pm 0.3$	Е	$10.6 \pm 0.5$	В	11.6 ± 0.8	Α	10.5 ± 0.5	ВС	$9.6 \pm 0.6$	С	$8.0 \pm 0.3$	D	10.1 ± 0.7	ВС
Arginina**	$21.9 \pm 0.5$	D	$26.9 \pm 0.9$	С	28.8 ± 1.4	ВС	$30.5 \pm 0.6$	AB	27.2 ± 4.7	ВС	$25.8 \pm 0.7$	С	33.4 ± 1.6	Α
Tirosina**	$13.0 \pm 0.4$	С	18.4 ± 0.7	AB	20.8 ± 1.6	Α	$18.3 \pm 0.6$	AB	15.3 ± 2.9	ВС	$14.3 \pm 0.4$	С	17.7 ± 1.8	В
Cisteína**	21.6 ± 0.4	В	26.9 ± 1.2	Α	29.0 ± 2.0	Α	27.1 ± 0.6	Α	24.7 ± 2.0	Α	$22.1 \pm 0.6$	В	28.0 ± 2.4	Α
Valina**	$10.6 \pm 0.2$	С	$13.1 \pm 0.6$	AB	14.1 ± 1.0	Α	$13.2 \pm 0.3$	AB	12.1 ± 1.0	В	$10.8 \pm 0.3$	С	13.6 ± 1.1	Α
Metionina**	$8.9 \pm 0.6$	ns	8.7 ± 2.1	ns	$8.2 \pm 4.0$	ns	12.0 ± 2.7	ns	$8.7 \pm 2.4$	ns	$6.5 \pm 0.3$	ns	$9.4 \pm 3.7$	ns
Fenilalanina**	$9.0 \pm 0.7$	Ns	$12.8 \pm 5.4$	ns	18.9 ± 0.9	ns	19.4 ± 0.9	ns	15.7 ± 5.1	ns	$16.5 \pm 0.4$	ns	17.6 ± 6.6	ns
Isoleucina**	20.0 ± 0.2	D	$23.4 \pm 0.8$	С	27.3 ± 1.1	Α	$23.8 \pm 0.9$	ВС	22.6 ± 1.3	С	20.2 ± 0.5	D	25.3 ± 1.7	В
Leucina**	$21.0 \pm 0.1$	ns	18.3 ± 12.5	ns	$5.5 \pm 0.3$	ns	$2.7 \pm 0.7$	ns	9.2 ± 11.5	ns	$2.7 \pm 0.1$	ns	10.4 ± 12.5	ns
Lisina**	$22.0 \pm 0.4$	D	27.1 ± 1.4	ВС	29.9 ± 1.2	Α	26.2 ± 0.9	ВС	25.7 ± 1.0	С	22.1 ± 0.5	D	27.4 ± 0.6	В
Total **v	154.7 ± 2.9	CD	186.1 ± 13.1	AB	194.0 ± 12.6	Α	183.6 ± 5.7	В	170.9 ± 9.5	ВС	148.9 ± 4.0	D	193.0 ± 17.8	Α
Total AA	338.7 ± 3.7	D	371.5 ± 18.2	ВС	395.5 ± 18.4	AB	368.9 ± 9.8	С	360.5 ± 17.5	CD	320.9 ± 8.6	D	405.6 ± 20.2	Α

<sup>+</sup> Sabor dulce, \*Sabor umami, \*\* Sabor amargo. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas de inicial vs. semana 12 (A > B > C > D) α = 0.05. ns = no significativo.

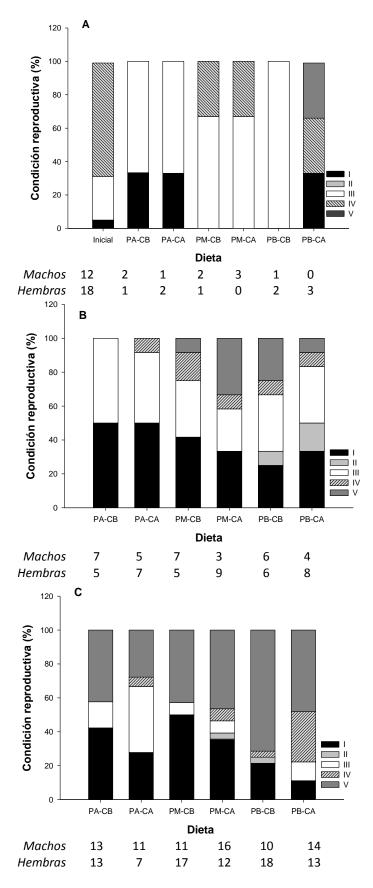


Figura 35. Condición reproductiva (%) y cantidad de machos y hembras de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y sexta semana (A), novena (B) y doceava semana de alimentación (C). En donde PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PA-CA = proteína alta - carbohidrato alto; PM-CB = proteína media - carbohidrato bajo; PM-CA = proteína media - carbohidrato alto y PB-CB = proteína baja - carbohidrato bajo; PB-CA= proteína baja - carbohidrato alto.

# 3.3 Evaluación del efecto de dos niveles de aceite de pescado (0 y 3%) y tres niveles de lecitina de soya (0, 2 y 4%): (Exp. 3)

# 3.3.1 Supervivencia

La supervivencia de los organismos no difirió significativamente entre los tratamientos experimentales [F (5, 12) = 1.42; P = 0.28)]. Los erizos alimentados con la dieta AA-BL (3/2) presentaron una menor supervivencia (86.6  $\pm$  17.6%), en comparación con los organismos alimentados con las otras dietas, los cuales exhibieron una supervivencia superior al 93% (Tabla 19).

Tabla 19. Promedio  $\pm$  DE, de la supervivencia (%), diámetro de la testa (mm) y peso total (g) de los organismos alimentados con las distintas dietas en la semana 12. ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Fisher. En dónde: Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya (BA-SL); bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya (BA-BL); alto aceite de pescado - sin lecitina de soya (AA-SL); alto aceite de pescado - baja lecitina de soya (AA-BL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-BL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-AL).Las letras indican las diferencias significativas.  $\alpha$  = 0.05.

	BA-SL	BA-BL	BA-AL	AA-SL	AA-BL	AA-AL	P valor	
	0/0	0/2	0/4	3/0	3/2	3/4	r vuioi	
Supervivencia (%)	97.8±3.8	100.0±0.0	97.8±3.9	100.0±0.0	86.7±17.6	100.0±0.0	0.28	
Diametro de la testa (mm)	37.5±4.4	35.9±3.7	37.4±4.3	36.4±4.0	37.1±5.6	37.3±3.2	0.27	
Peso total (g)	65.0±12.5 <sup>ab</sup>	62.0±10.9 <sup>b</sup>	66.6±11.6 <sup>ab</sup>	63.8±11.9 <sup>ab</sup>	70.0±17.7 <sup>a</sup>	66.4±8.6 <sup>ab</sup>	0.03	

## 3.3.2 Crecimiento

#### 3.3.2.1 Diámetro de la testa

Los organismos presentaron un DT inicial (mm  $\pm$  DE) de 35.86  $\pm$  3.9 para BA-SL (0/0), 34.3  $\pm$  2.8 para BA-BL (0/2), 34.3  $\pm$  3.7 para BA-AL (0/4), 35.8  $\pm$  3.3 para AA-SL (3/0), 33.9  $\pm$  4.3 para AA-BL (3/2) y 34.5  $\pm$  3.2 AA-AL (3/4). Al comparar el DT entre los organismos alimentados con las dietas experimentales, se obtuvieron diferencias significativas en la semana seis (P = 0.009), en donde los organismos que fueron alimentados con la dieta AA-SL (3/0) presentaron el promedio de DT más alto 35.0 $\pm$ 3.6, aunque este valor no fue significativamente diferente del DT inicial. Al finalizar el ensayo de alimentación (semana 12), no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas ofrecidas con relación al DT inicial (P = 0.27) (Tabla 19).

# **3.3.2.2** Peso total

Al inicio del ensayo de alimentación el peso total de los organismos no fue significativamente diferente entre los tratamientos [F (5, 12) = 0.6; P = 0.78]. En la semana 6, se obtuvieron diferencias significativas en el peso total de los organismos (P = 0.02), en dónde los organismos alimentados con las dietas BA-SL (0/0), BA-AL (0/4) y AA-BL (3/2) presentaron los valores de peso total promedio más

bajos ( $49.8 \pm 6.2$ ,  $55.0 \pm 10$  y  $47.0 \pm 5.8$  g, respectivamente). Al finalizar el ensayo, los valores iniciales del peso total de los erizos fueron significativamente más bajos que los obtenidos con la alimentación; entre los tratamientos se obtuvieron diferencias significativas, en donde los organismos alimentados con la dieta AA-BL (3/2) generaron el mayor promedio del peso total ( $70.0 \pm 17.7$  g) (Tabla 19).

# 3.3.2.3 Peso húmedo de las gónadas e índice gonadal (IG)

En ambos periodos de muestreo, se obtuvieron diferencias significativas de los valores iniciales del peso húmedo gonadal en relación al peso húmedo de las gónadas de los organismos alimentados con las dietas experimentales (P < 0.05). Sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el peso húmedo de las gónadas entre los organismos alimentados con las dietas (Figura 36) (Figura 38). Las gónadas de S. purpuratus presentaron un peso húmedo inicial de  $4.2 \pm 1.8$  g. En la semana 6, el mayor peso de las gónadas fue obtenido en los organismos alimentados con la dieta BA-AL (0/4) con  $9.1 \pm 1.8$  g, mientras que en la semana 12 la dieta AA-BL (3/2) promovió el mayor peso de las gónadas ( $14.0 \pm 5.2$  g). Por su parte, el IG incrementó significativamente con la alimentación en relación al IG inicial ( $9.3 \pm 3.3\%$ ); sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el IG de los erizos entre los tratamientos. El mayor IG obtenido fue de  $20.0 \pm 3.2\%$  en los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0) (Figura 37). No se observó correlación entre la inclusión de aceite de pescado y/o lecitina de soya en dieta vs. el IG y el PG (Anexo F, Tabla 37 y Tabla 38).

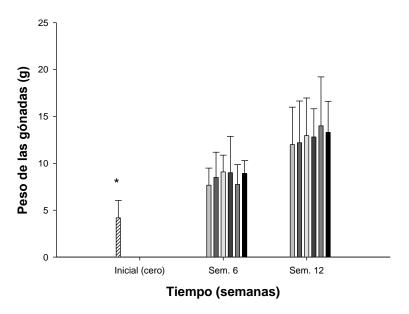


Figura 36. Peso de las gónadas (g ± DE) de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05.

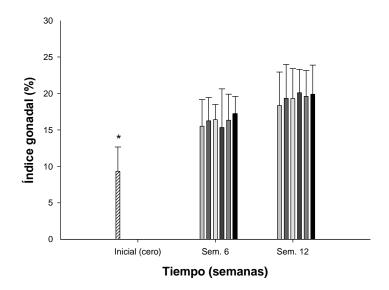


Figura 37. Índice gonadal (% ± DE) de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las 12 semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05.

#### 3.3.3 Consumo

#### 3.3.3.1 Tasa de consumo diario (TCD) y tasa de conversión alimenticia a peso gonadal (TCAG)

La TCD de los organismos no fue significativamente diferente entre los tratamientos [F (5, 12) = 0.99; P = 0.46]. Los organismos consumieron aproximadamente 0.4 g alimento org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> (Tabla 20). Por su parte, la TCAG fue significativamente diferente entre los tratamientos [F (5, 12) = 3.7; P = 0.028], y se encontró más baja en los organismos que fueron alimentados con las dietas AA-BL (3/2) y AA-AL (3/4) (3.7 ± 0.5 y 3.3 ± 0.4 g alimento seco consumido por g incremento en peso gonadal, respectivamente) (Tabla 20). La TCAG presentó correlación significativa con la inclusión de aceite de pescado en dieta (R= 0.61) (Anexo F, Tabla 37 y 38).

# 3.3.3.2 Tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG)

La TEPG fue significativamente diferente entre los tratamientos, [F (5, 12) = 3.13; P = 0.04], los organismos que consumieron la dieta AA-AL (3/4) presentaron la TEPG más alta (1.3  $\pm$  0.1 g incremento gonadal g de proteína consumida), contrario a los organismos que consumieron la dieta BA-SL (0/0), quienes presentaron la menor eficiencia (0.9  $\pm$  0.1 g incremento gonadal g de proteína consumida) (Tabla 20).

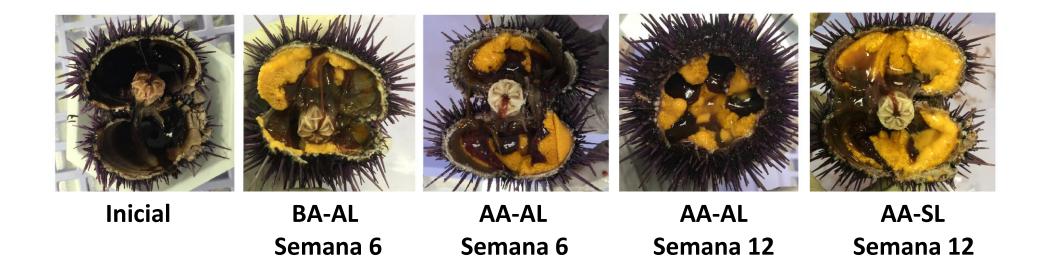


Figura 38. Crecimiento de las gónadas de *S. purpuratus* al inicio, luego de haber sido alimentado con la dieta BA-AL (bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya) en la semana 6, AA-AL (alto aceite de pescado – alta lecitina de soya) semana 12 y AA-SL (alto aceite de pescado – sin lecitina de soya) semana 12. Se observa el crecimiento gonadal con la alimentación formulada.

# 3.3.3.3 Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP).

Se obtuvieron diferencias significativas en el CDA entre los tratamientos [F (5, 12) = 4.76; P = 0.012]. La dieta BA-BL (0/2) generó la menor digestibilidad  $(82.5 \pm 1.2\%)$ . El CDAP no fue significativamente diferente entre los tratamientos (P = 0.06) y se mantuvo relativamente bajo en los organismos alimentados con todas las dietas experimentales (< 35%) (Tabla 20).

Tabla 20. Tasa de consumo diario (TCD) (g alimento consumido org-1 día-1), tasa de conversión alimenticia a gónada (TCAG) (g alimento consumido g incremento gonadal), tasa de eficiencia proteica (TEPG) (g incremento gonadal g de proteína consumida), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA%), y coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP%) en *S. purpuratus* alimentado con seis dietas distintas durante un periodo de 12 semanas.

				A	ceite de pe	scado	/ lecitina d	de soy	a			
	BA-SL (0/0)				BA-AL (0/4)	AA-SL (3/0)			AA-BL (3/2)		AA-AL (3/4)	
TCD 1	0.46 ± 0.1		0.42 ± 0.04		0.44 ± 0.04		0.44 ± 0.1		0.44 ± 0.1		0.40 ± 0.05	
TCAG <sup>2</sup>	4.9 ± 0.4	Α	4.4 ± 0.4	AB	4.2 ± 0.2	AB	4.1 ± 0.8	ABC	3.7 ± 0.5	ВС	$3.3 \pm 0.4$	С
TEPG <sup>3</sup>	0.9 ± 0.1	С	1.0 ± 0.1	ВС	$1.0 \pm 0.1$	ВС	1.0 ± 0.2	ВС	1.1 ± 0.1	AB	1.3 ± 0.1	Α
CDA %	88.2 ± 5.8	Α	82.5 ± 1.2	В	88.9 ± 3.0	Α	87.8 ± 1.4	Α	91.7 ± 3.2	Α	92.6 ± 3.6	Α
CDAP %	29.7 ± 4.7		19.9 ± 0.4		30.4 ± 5.0		24.0 ± 4.5		33.7 ± 7.1		29.3 ± 3.9	

Los valores representan el promedio ( $\pm$  DE). Las letras indican las diferencias significativas entre las dietas ofrecidas. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher con un P < 0.05 o menor (A>B>C). En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya.

- g alimento consumido org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>
- $2. \hspace{0.5cm} \hbox{$\sf g$ alimento consumido por $\sf g$ de incremento gonadal} \\$
- 3. g incremento gonadal por g de proteína consumida

#### 3.3.4 Calidad gonadal

#### 3.3.4.1 Textura (escala 1-4)

Los valores de textura de las gónadas disminuyeron significativamente en ambos periodos de muestreo con relación a los valores iniciales (P < 0.002); las gónadas pasaron de ser "granulares" y no tener diferenciación de las mitades a ser "muy suaves" y con diferenciación. En la semana 6, se obtuvieron diferencias significativas en la textura de las gónadas entre los tratamientos, en dónde los organismos alimentados con la dieta AA-AL (3/4) generaron las gónadas con textura más "suaves" y con mayor diferenciación de sus mitades. En la semana 12, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, todas las dietas resultaron en promover la textura gonadal y generaron gónadas entre "suaves" y "muy suaves", con las mitades diferenciadas. Los erizos alimentados con la dieta AA-SL (3/0) presentaron la menor escala promedio de textura de las gónadas al finalizar el ensayo ( $1.04 \pm 0.2$ ) (Figura 39).

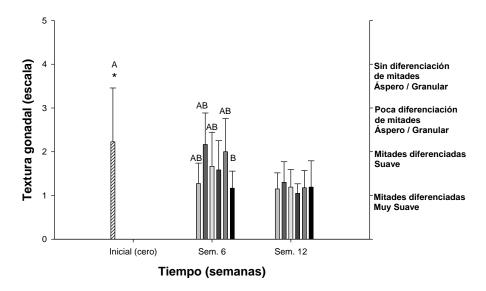


Figura 39. Escala de textura gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En dónde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado- sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado- baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado- alta lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado- sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado- alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre el inicial vs. semana 6. El asterisco indica las diferencias del inicial vs. semana 12. α = 0.05.

# 3.3.4.2 Firmeza (escala 1-4)

No se obtuvieron diferencias significativas en la firmeza de las gónadas en la semana 6 con relación a los valores de firmeza de las gónadas al inicio del ensayo (P = 0.065). La firmeza de las gónadas en la semana 6, tendió a disminuir su escala, exceptuando las gónadas de aquellos organismos que fueron alimentados con las dietas que contenían cantidad baja de lecitina de soya. En la semana 12 se obtuvieron diferencias significativas en la firmeza de las gónadas, con relación a los valores iniciales (P < 0.0001), las gónadas pasaron de ser "muy suaves" a "firmes". Los organismos alimentados con las dietas AA-SL (3/0) y AA-AL (3/4), generaron las gónadas con mayor firmeza (Figura 40).

#### 3.3.4.3 Sabor (escala 1-5)

En general, los valores de la escala de sabor de las gónadas no presentaron diferencias significativas en ninguno de los periodos de muestreo (P = 0.2). La escala de sabor de las gónadas en la semana 6 se obtuvó más baja en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0), mientras que en la semana 12, la menor escala fue obtenida en las gónadas de los organismos alimentados con las dietas BA-BL (0/2) y AA-SL (3/0). En general, los organismos generaron gónadas con sabores entre "buenos" y "muy buenos" (Figura 41).

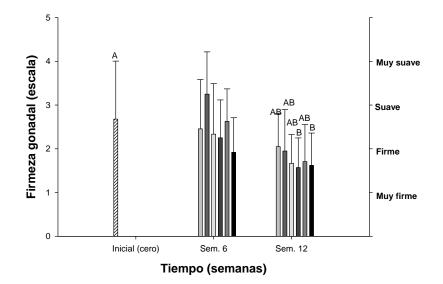


Figura 40. Escala de firmeza gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre el inicial vs. semana 12. α = 0.05.

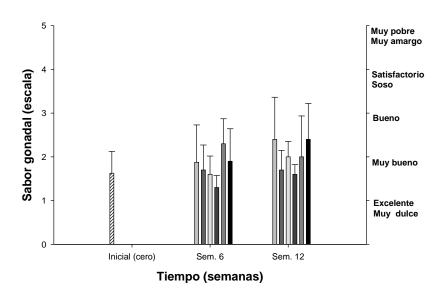


Figura 41. Escala de sabor delas gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05.

#### 3.3.4.4 Color (escala 1-4)

La escala de color inicial de las gónadas fue de  $2.06 \pm 1.2$  y tendió a disminuir durante el ensayo de alimentación. Los valores iniciales de color de las gónadas fueron significativamente diferentes a los obtenidos de las gónadas de los organismos en la semana 12. Las gónadas pasaron de ser "amarillas-anaranjadas marrones" a ser "amarillas-anaranjadas brillantes" (Figura 42).

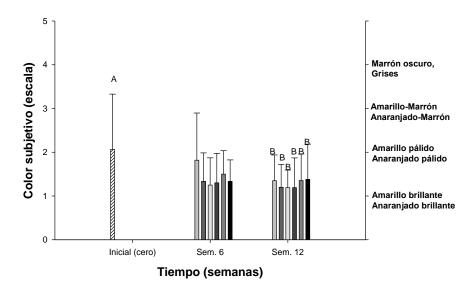


Figura 42. Escala de color gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. Kruskal-Wallis, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre el inicial vs. semana 12. α = 0.05.

# 3.3.4.5 CIE $L^* a^* b^*$ y diferencia de color total $\Delta E_{00}$

El valor inicial de luminosidad de las gónadas ( $L^*$ ) (±DE) fue de 51.8 ± 7.5, el cual se mantuvo sin diferencias significativas en ambos periodos de muestreo (P = 0.68) (Figura 43). Los valores de matiz de las gónadas ( $a^*$ ), no presentaron diferencias significativas en la semana 6, pero en la semana 12 el valor de  $a^*$  disminuyó significativamente en las gónadas con en relación a los valores iniciales (P = 0.012). El valor inicial de matiz de las gónadas fue de 18.7 ± 4.1, y disminuyó en mayor cantidad en los erizos que fueron alimentados con la dieta BA-BL a 14.8 ± 2.2 en la semana 12 (Figura 44). Mientras que los valores obtenidos de croma ( $b^*$ ) en las gónadas no presentaron diferencias significativas en ninguno de los periodos de muestreo y se mantuvieron por encima de 30% (Figura 45). La diferencia de color total de las gónadas ( $\Delta E_{00}$ ) fue significativamente diferente entre los tratamientos con ambas cartas de color en la semana 12. Los organismos que consumieron las dietas BA-BL (0/2), BA-AL (0/4) y AA-AL (3/4) generaron gónadas con coloraciones más cercanas a la carta de color 8 (i.e. 20) (Figura 46) y a la carta de color 12 (< 20) (Figura 47). En general, las gónadas

presentaron coloraciones más cercanas a los amarillos-anaranjados; y las dietas que contenían alta lecitina de soya generaron gónadas con coloraciones más cercanas a las cartas de color estándar  $(\Delta E_{00(12)} \text{ BA-AL} = 13.8 \pm 4.2; \Delta E_{00(8)} \text{ AA-AL} = 18.6 \pm 4.7).$ 

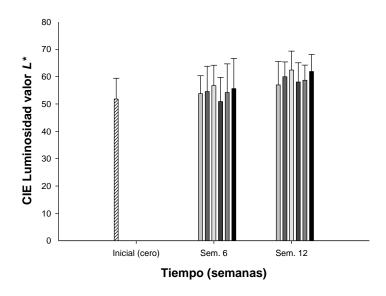


Figura 43. Valores de luminosidad *L\** gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas. α = 0.05.

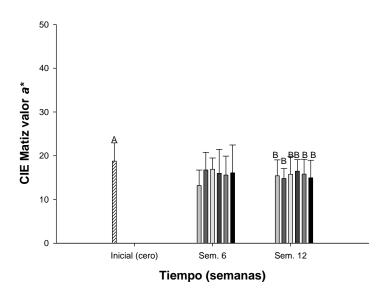


Figura 44. Valores de matiz *a\** gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, las letras (A > B) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

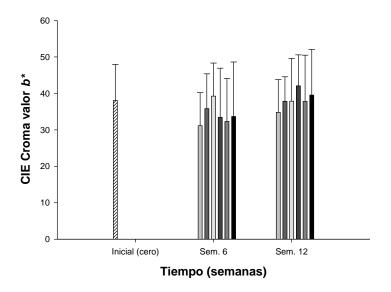


Figura 45. Valores de croma  $b^*$  gonadal de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicia; BA-SL = Bajo aceite de pescado — sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado — baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado — sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado — sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado — alta lecitina de soya. ANOVA de una vía, no se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas.  $\alpha = 0.05$ .

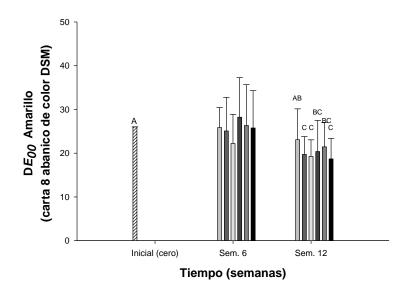


Figura 46. Diferencia de color total  $\Delta E_{00}$  Amarillo (carta 8) en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12.  $\alpha$  = 0.05.

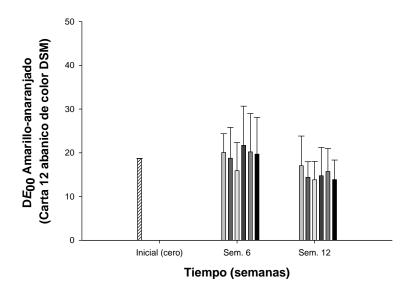


Figura 47. Diferencia de color total ΔΕ<sub>00</sub> Amarillo-anaranjado (carta 12) en las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales durante las doce semanas del ensayo de alimentación. En donde: Inicial; BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado- baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya. ANOVA de una vía. Las letras (A > B > C) indican las diferencias significativas entre inicial vs. semana 12. α = 0.05.

#### 3.3.5 Composición bioquímica de las gónadas de S. purpuratus

#### 3.3.5.1 Análisis proximal de las gónadas de S. purpuratus

La composición proximal de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas se muestran en la Tabla 21. Al comparar los resultados de la composición proximal de las gónadas después del periodo de alimentación con la composición de las gónadas de los organismos al inicio del, se obtuvieron diferencias significativas en la cantidad de proteínas y de cenizas.

En la semana 6, la cantidad de proteínas en las gónadas disminuyeron por efecto de la alimentación, excepto cuando los organismos fueron alimentados con la dieta AA-AL (3/4); la cantidad más baja de proteínas en gónada fue obtenida en los organismos que fueron alimentados con la dieta BA-SL (0/0) (37.3  $\pm$  1.9 g por cada 100 g de gónada seca). En la semana 12, se observó un incremento en la cantidad de proteínas en las gónadas de los organismos alimentados con las dietas BA-AL (0/4), AA-SL (3/0) y AA-BL (3/2), mientras que los alimentados con BA-SL (0/0) continuaron presentando la menor cantidad de proteínas en gónada (35.2  $\pm$  6.3 g por cada 100 g de gónada seca) (Tabla 21).

La cantidad de lípidos totales en gónada se mantuvo sin diferencias significativas durante todo el ensayo de alimentación, y las cantidades no sobrepasaron los 6.5 g por cada 100 g de gónada seca. De igual forma ocurrió con el ELN, el cual se mantuvo alrededor de los 50 g por cada 100 g de gónada

seca. Por su parte, las cenizas aumentaron significativamente con la alimentación en ambos periodos de muestreo, pero no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos (Tabla 21).

Se observó que la inclusión de aceite de pescado en las dietas tiene mayor correlación con la cantidad de proteínas y ELN en gónada que con la inclusión de lecitina de soya. Mientras que la inclusión de lecitina de soya en dieta no presentó una correlación relevante con ninguno de los macronutrientes en gónada (Anexo F, Tabla 37 y 38).

# 3.3.5.2 Contenido de ácidos grasos de las gónadas de S. purpuratus

Los ácidos grasos totales de las gónadas de *S. purpuratus*, presentaron un cambio significativo entre los tratamientos [F (6, 14) = 35.541; P = 0.0000)] (Tabla 22). Los organismos que fueron alimentados con la dieta, AA-BL (3/2) presentaron la mayor acumulación de ácidos grasos totales en gónada (28.6  $\pm$  0.43 mg Ag por g de gónada seca). La cantidad de ácidos grasos saturados (SFA) en gónada fue significativamente diferente entre tratamientos [F (6, 14) = 70.84; P = 0.0000)] en donde se observó una disminución de estos Ag en gónada por efecto de la alimentación, exceptuando a los organismos que consumieron la dieta AA-BL (3/2), los cuales no presentaron diferencias significativas de SFA en gónada con relación a la cantidad de SFA en gónada al inicio del ensayo de alimentación.

Se encontraron diferencias significativas en los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) en gónada [F (6, 14) = 165.8; P = 0.0000)] entre los tratamientos. En dónde, la mayor acumulación de estos Ag se presentó en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta BA-SL (0/0), representados en su mayor parte por los MUFAs 14:1, 18:1n-9 y 20:1. Por su parte, los organismos que fueron alimentados con las dietas bajas en aceite de pescado y con inclusión de lecitina de soya presentaron una disminución de MUFAs en gónada con relación a la cantidad obtenida de estos Ag en gónada al inicio del experimento.

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se acumularon en mayor cantidad en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta BA-AL (0/4) y AA-BL (3/2) ( $11.51 \pm 0.2$  y  $11.8 \pm 0.3$  mg Ag por g de gónada seca, respectivamente). Los altos valores de PUFAs en las gónadas estuvieron representadas en su mayor parte por la cantidad de ácidos grasos PUFA n-6; en el caso de los organismos alimentados con la dieta BA-AL (0/4), la mayor cantidad de PUFA n-6 resultó del ácido graso 18:3n-6, mientras que los alimentados con la dieta AA-BL (3/2), la mayor cantidad de PUFA n-6 proviene del ácido graso 20:3n-6. El DHA y ARA se acumularon significativamente en las gónadas por efecto del alimento suministrado, en específico en las gónadas de aquellos organismos alimentados con la dieta AA-BL (3/2); mientras que el contenido de EPA, disminuyó significativamente en las gónadas de los erizos con la alimentación suministrada (Tabla 22).

Tabla 21. Composición proximal (g de nutriente por cada 100 g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales, al inicio, sexta y doceava semana de alimentación. En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya.

Semana 6	Inicial		BA-SL (0/0)		BA-BL (0/2)		BA-AL (0/4)		AA-SL (3/0)		AA-BL (3/2)		AA-AL (3/4)	
Proteínas	45.5 ± 1.8	Α	37.3 ± 1.9	С	40.8 ± 2.7	ВС	38.8 ± 3.6	ВС	37.6 ± 1.6	С	40.4 ± 3.4	ВС	43.2 ± 3.1	AB
Lípidos	3.9 ± 1.2	ns	5.6 ± 0.6	ns	6.4 ± 1.5	ns	5.4 ± 0.3	ns	6.3 ± 0.2	ns	5.4 ± 2.0	ns	4.7 ± 0.9	ns
Cenizas	$0.4 \pm 0.0$	В	3.3 ± 0.3	Α	3.3 ± 0.2	Α	3.2 ± 0.3	Α	3.2 ± 0.3	Α	3.5 ± 0.4	Α	$3.0 \pm 0.3$	Α
ELN	50.2 ± 0.5	ns	53.9 ± 1.6	ns	49.5 ± 1.5	ns	52.5 ± 4.0	ns	52.9 ± 1.9	ns	50.7 ± 1.9	ns	49.2 ± 2.4	ns

Semana 12	Inicial	BA-SL (0/0)		BA-BL (0/2)		BA-AL (0/4)		AA-SL (3/0)		AA-BL (3/2)		AA-AL (3/4)	
Proteínas	А	35.2 ± 6.3	С	37.5 ± 3.5	ВС	40.5 ± 0.3	ABC	43.8 ± 3.1	Α	42.2 ± 3.2	AB	39.6 ± 0.9	ABC
Lípidos	ns	5.9 ± 0.6	ns	4.5 ± 0.7	ns	5.1 ± 0.4	ns	5.1 ± 1.6	ns	6.4 ± 1.1	ns	5.4 ± 0.8	ns
Cenizas	В	$3.0 \pm 0.8$	Α	3.1 ± 0.7	Α	2.6 ± 0.1	Α	2.7 ± 0.3	Α	2.5 ± 0.2	Α	3.0 ± 1.0	Α
ELN	ns	55.9 ± 5.3	ns	54.9 ± 4.4	ns	51.8 ± 0.8	ns	48.4 ± 4.2	ns	48.9 ± 2.3	ns	52.0 ± 1.6	ns

<sup>\*</sup> Extracto Libre de Nitrógeno: E L N = 100 - (proteína + lípidos + cenizas). ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican las diferencias significativas de Inicial vs. Semana 12 (A > B > C>D). α = 0.05. ns = no significativo.

# 3.3.5.3 Contenido de aminoácidos totales de las gónadas de S. purpuratus

La cantidad total de aminoácidos de las gónadas de los erizos varió significativamente entre tratamientos [F (6, 11) = 10.803; P = 0.0003)] (Tabla 23). Se observó una disminución en la cantidad total de aminoácidos en gónada por efecto de la alimentación suministrada; únicamente los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0) se mantuvieron sin diferencias significativas en relación a la cantidad obtenida de aminoácidos en gónada al inicio del experimento (367.7  $\pm$  13.0 mg AA por g de gónada seca).

La cantidad total de aminoácidos dulces (i.e. serina, glicina, treonina, alanina y prolina) se acumuló significativamente en las gónadas de los organismos alimentados con las dietas AA-SL (3/0), AA-BL (3/2) y AA-AL (3/4) [F (6, 11) = 7.12; P = 0.002)]. En general, la serina y la alanina se mantuvieron sin cambios muy representativos, mientras que la glicina se acumuló significativamente en las gónadas por efecto de la alimentación, excepto en la dieta AA-AL (3/4), en dónde se observó una acumulación significativa de la treonina.

Por su parte, la cantidad total de aminoácidos promotores de sabor umami (i.e. aspartato y glutamato) [F (6, 11) = 5.52; P = 0.006)], incrementó en mayor cantidad en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0), en donde la cantidad de glutamato fue superior a la de aspartato. Finalmente, la cantidad total de aminoácidos promotores de sabores amargos (i.e. histidina, arginina, tirosina, cisteína, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina y lisina) disminuyó significativamente en las gónadas con relación a la cantidad inicial [F (6, 11) = 53.5; P = 0.0001)], en donde las gónadas de los organismos alimentados con las dietas BA-SL (0/0) y AA-AL (3/4) generaron la menor acumulación de éstos aminoácidos; en donde la histidina, cisteína, valina, metionina y fenilalanina disminuyeron significativamente para todos los tratamientos por efecto de la alimentación suministrada (Tabla 23).

# 3.3.6 Condición reproductiva de *S. purpuratus*

Al inicio del ensayo, el 18% de los organismos se encontraron en estadio II, el 54% se encontraron en estadio III, el 25% en estadio IV y el 4% en estadio V. En la semana seis, la mayor cantidad de organismos se encontraban en estadio IV y III. La mayor cantidad de organismos que se encontraban en estadio IV pertenecía a los que se alimentaron con la dieta BA-SL (0/0) (83%), mientras que en el estadio III, la mayor cantidad se encontró en los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0) (42%).

En la semana 12, los erizos alimentados con las dietas con bajo nivel aceite de pescado, presentaron la mayor cantidad de organismos en estadio IV y III; mientras que los organismos alimentados con las dietas con alto nivel aceite de pesado, presentaron proporciones similares de organismos en estadio III y IV. En todas las dietas se observó el aumento en la presencia de organismos en estadio V de desarrollo, excepto para los organismos alimentados con las dietas AA-SL (3/0), AA-BL (3/2) y AA-AL (3/4) en donde los erizos se encontraron mayoritariamente en el estadio II (Figura 48).

Tabla 22. Contenido de ácidos grasos (Ag) (mg Ag por cada g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya.

	Inicial		BA-SL (0/0)		BA-BL (0/2)		BA-AL (0/4)		AA-SL (3/0)		AA-BL (3/2)		AA-AL (3/4)	
Ácidos grasos se	aturados (SFA)													
12:0	$0.01 \pm 0.00$	Α	$0.01 \pm 0.00$	D	$0.01 \pm 0.00$	С	$0.01 \pm 0.00$	С	$0.01 \pm 0.00$	С	$0.01 \pm 0.00$	AB	$0.01 \pm 0.00$	ВС
13:0	$0.08 \pm 0.02$	D	0.02 ± 0.00	Ε	0.19 ± 0.03	В	0.21 ± 0.02	AB	0.13 ± 0.02	С	0.22 ± 0.03	AB	0.23 ± 0.03	Α
14:0	$3.61 \pm 0.03$	Α	$0.31 \pm 0.05$	D	2.35 ± 0.29	С	2.44 ± 0.21	С	2.64 ± 0.22	ВС	2.99 ± 0.16	В	2.72 ± 0.32	ВС
15:0	$0.13 \pm 0.00$	Α	0.57 ± 0.09	В	$0.11 \pm 0.01$	В	$0.12 \pm 0.01$	В	$0.10 \pm 0.02$	В	$0.12 \pm 0.01$	В	$0.12 \pm 0.01$	В
16:0	4.70 ± 0.02	Α	3.90 ± 0.07	С	$3.83 \pm 0.16$	С	$4.30 \pm 0.20$	В	$3.70 \pm 0.44$	С	4.67 ± 0.14	Α	4.20 ± 0.17	ВС
18:0	1.41 ± 0.02	Α	0.49 ± 0.02	В	0.20 ± 0.06	С	$0.18 \pm 0.01$	С	$0.18 \pm 0.04$	С	$0.18 \pm 0.03$	С	0.15 ± 0.06	С
20:0	1.78 ± 0.30	Α	$0.14 \pm 0.02$	С	$0.38 \pm 0.06$	В	$0.45 \pm 0.05$	В	$0.56 \pm 0.11$	В	$0.58 \pm 0.05$	В	0.50 ± 0.07	В
22:0	$0.48 \pm 0.02$	D	0.39 ± 0.05	D	1.54 ± 0.07	С	1.53 ± 0.07	С	2.24 ± 0.12	В	2.77 ± 0.08	Α	2.14 ± 0.12	В
Ácidos grasos n	nonoinsaturados (M	UFA)												
14:1	$0.47 \pm 0.00$	В	$3.41 \pm 0.14$	Α	0.27 ± 0.08	С	$0.25 \pm 0.01$	С	$0.33 \pm 0.02$	С	$0.35 \pm 0.03$	С	$0.31 \pm 0.05$	С
15:1	$0.01 \pm 0.01$	D	$0.11 \pm 0.01$	Α	$0.04 \pm 0.01$	ВС	$0.04 \pm 0.00$	В	$0.01 \pm 0.00$	D	$0.02 \pm 0.01$	CD	$0.04 \pm 0.01$	В
16:1	$0.88 \pm 0.01$	Α	$0.88 \pm 0.04$	Α	0.65 ± 0.07	С	$0.66 \pm 0.04$	ВС	$0.76 \pm 0.10$	ВС	$0.86 \pm 0.06$	AB	0.76 ± 0.07	В
17:1	0.23 ± 0.07	Α	$0.03 \pm 0.00$	В	$0.04 \pm 0.00$	В	$0.04 \pm 0.00$	В	$0.03 \pm 0.00$	В	$0.05 \pm 0.00$	В	$0.04 \pm 0.01$	В
18:1 <i>n</i> -9	$0.74 \pm 0.01$	В	1.14 ± 0.03	Α	0.55 ± 0.03	D	$0.61 \pm 0.00$	С	$0.50 \pm 0.05$	D	$0.71 \pm 0.03$	В	0.62 ± 0.05	С
20:1	1.19 ± 0.19	В	1.29 ± 0.04	В	1.14 ± 0.04	В	1.24 ± 0.05	В	1.25 ± 0.26	В	1.57 ± 0.05	Α	1.12 ± 0.09	В
22:1 <i>n</i> -9	$0.29 \pm 0.01$	С	0.27 ± 0.02	С	$0.31 \pm 0.01$	С	$0.38 \pm 0.01$	В	$0.39 \pm 0.08$	В	$0.48 \pm 0.01$	Α	$0.34 \pm 0.08$	ВС
24:1 <i>n</i> -9	$0.59 \pm 0.16$	С	0.49 ± 0.04	С	0.53 ± 0.12	С	0.47 ± 0.05	С	0.85 ± 0.05	В	1.24 ± 0.16	Α	0.90 ± 0.21	В

Continuación Tabla 18.

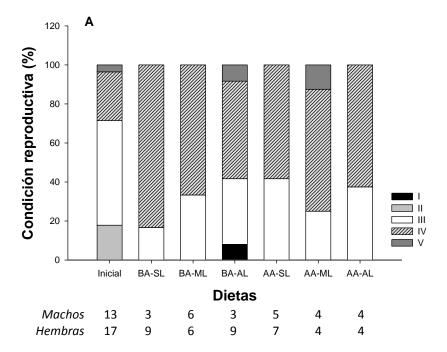
	Inicial		BA-SL (0/0)		BA-BL (0/2)		BA-AL (0/4)		AA-SL (3/0)		AA-BL (3/2)		AA-AL (3/4)	
Ácidos grasos polii	nsaturados (PUFA)		(0,0)		(-, -,		(-, -,		(=, =,		(-, -,		(-, -,	
18:2 <i>n</i> -6 <i>trans</i>	0.31 ± 0.06	Е	0.80 ± 0.03	D	1.06 ± 0.09	С	1.24 ± 0.02	В	1.09 ± 0.14	С	1.47 ± 0.01	Α	1.35 ± 0.07	В
18:2 <i>n</i> -6 <i>Cis</i>	$0.08 \pm 0.00$	Ε	$0.42 \pm 0.07$	D	0.66 ± 0.02	С	0.68 ± 0.03	С	$0.81 \pm 0.09$	В	0.96 ± 0.01	Α	$0.78 \pm 0.01$	В
20:2 <i>n</i> -6	2.05 ± 0.06	Α	$1.18 \pm 0.11$	С	$1.14 \pm 0.10$	С	1.15 ± 0.07	С	1.27 ± 0.17	С	$1.50 \pm 0.01$	В	$1.13 \pm 0.09$	С
18:3 <i>n</i> -6	$0.40 \pm 0.00$	С	$0.24 \pm 0.02$	С	2.05 ± 0.29	В	2.98 ± 0.12	Α	$0.24 \pm 0.02$	С	1.65 ± 0.13	В	2.40 ± 0.57	В
20:3 <i>n</i> -6	0.56 ± 0.00	Ε	$2.54 \pm 0.13$	В	2.06 ± 0.17	D	2.16 ± 0.06	CD	$2.40 \pm 0.34$	ВС	2.83 ± 0.14	Α	$2.08 \pm 0.11$	CD
20:4 <i>n</i> -6 (ARA)	$0.40 \pm 0.02$	С	$0.37 \pm 0.04$	С	1.82 ± 0.18	AB	1.94 ± 0.17	Α	1.53 ± 0.09	В	2.05 ± 0.16	Α	1.63 ± 0.27	В
$\Sigma$ Omega 6	$3.80 \pm 0.14$	F	5.55 ± 0.14	E	8.78 ± 0.23	С	10.16 ± 0.14	Α	7.34 ± 0.85	D	10.46 ± 0.25	Α	9.36 ± 0.37	В
18:3 <i>n</i> -3	0.91 ± 0.02	Α	0.21 ± 0.03	Ε	0.41 ± 0.01	D	0.54 ± 0.01	В	0.23 ± 0.04	E	0.42 ± 0.01	D	0.49 ± 0.04	С
20:3 <i>n</i> -3	2.52 ± 0.09	Α	1.64 ± 0.08	В	0.43 ± 0.05	CD	0.47 ± 0.03	С	0.15 ± 0.02	Ε	$0.34 \pm 0.03$	D	$0.31 \pm 0.02$	D
20:5 <i>n</i> -3 (EPA)	2.46 ± 0.09	Α	1.46 ± 0.05	В	$0.21 \pm 0.01$	Ε	0.25 ± 0.02	DE	$0.33 \pm 0.08$	CD	$0.41 \pm 0.06$	С	0.28 ± 0.04	DE
22:6 <i>n</i> -3 (DHA)	0.01 ± 0.01	D	0.09 ± 0.01	С	0.10 ± 0.02	С	0.09 ± 0.02	С	0.15 ± 0.01	В	0.20 ± 0.02	Α	$0.14 \pm 0.03$	В
$\Sigma$ Omega 3	5.90 ± 0.19	Α	3.40 ± 0.16	В	1.14 ± 0.08	D	1.35 ± 0.06	С	0.86 ± 0.13	Ε	1.37 ± 0.05	С	1.21 ± 0.04	CD
Total SFA	12.20 ± 0.36	Α	5.82 ± 0.04	Ε	8.62 ± 0.35	D	9.24 ± 0.45	CD	9.57 ± 0.98	ВС	11.55 ± 0.26	Α	10.07 ± 0.45	В
Total MUFA	4.41 ± 0.29	С	7.63 ± 0.16	Α	3.52 ± 0.06	D	3.69 ± 0.04	D	4.14 ± 0.46	С	5.29 ± 0.11	В	4.14 ± 0.04	С
Total PUFA	9.70 ± 0.08	С	8.96 ± 0.19	D	9.92 ± 0.30	ВС	11.51 ± 0.20	Α	$8.20 \pm 0.51$	Ε	11.83 ± 0.30	Α	10.57 ± 0.42	В
Total Ag	26.31 ± 0.15	В	22.41 ± 0.01	D	22.06 ± 0.00	D	24.44 ± 0.34	С	21.90 ± 2.42	D	28.66 ± 0.43	Α	24.78 ± 0.00	С
$\Sigma$ n-3/ $\Sigma$ n-6	1.56		0.61		0.13		0.13		0.12		0.13		0.13	

ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras indican diferencias significativas de inicial vs. dietas (A > B > C > D).  $\alpha$  = 0.05.

Tabla 23. Composición de aminoácidos (mg AA por g de gónada seca) de las gónadas de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y doceava semana de alimentación. En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado – sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado – baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado – alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado – sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado – baja lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado – alta lecitina de soya.

Aminoácido	Inicial		BA-SL (0/0)		BA-BL (0/2)		BA-AL (0/4)		AA-SL (3/0)		AA-BL (3/2)		AA-AL (3/4)	
Serina+	16.2 ± 0.4	BCD	15.5 ± 0.8	CD	16.6 ± 1.5	ABC	16.6 ± 0.9	ВС	18.7 ± 1.4	Α	17.5 ± 0.8	AB	14.2 ± 1.4	D
Glicina+	$4.2 \pm 2.3$	С	33.6 ± 2.7	В	38.7 ± 4.1	AB	$37.8 \pm 0.4$	AB	42.4 ± 2.9	Α	40.2 ± 4.7	Α	$2.0 \pm 0.2$	С
Treonina+	35.7 ± 1.9	В	17.5 ± 1.3	D	18.7 ± 3.0	CD	19.4 ± 2.0	CD	22.3 ± 2.7	С	17.3 ± 3.6	D	$73.1 \pm 0.3$	Α
Alanina+	$6.9 \pm 0.1$	Ε	13.2 ± 0.4	С	15.6 ± 1.5	AB	15.0 ± 1.4	В	17.1 ± 1.4	Α	$16.0 \pm 0.6$	AB	10.9 ± 0.8	D
Prolina+	24.9 ± 1.2	Α	12.2 ± 1.0	D	$11.5 \pm 0.3$	D	12.4 ± 1.0	D	13.5 ± 2.0	D	20.4 ± 1.1	В	17.5 ± 2.7	С
Total+	87.9 ± 1.3	D	91.9 ± 4.8	CD	101.2 ± 9.9	ВС	101.3 ± 3.2	ВС	114.0 ± 10.4	AB	111.3 ± 8.7	AB	117.8 ± 4.9	Α
Aspartato*	18.5 ± 0.2	D	23.8 ± 2.9	С	25.9 ± 2.8	ВС	28.3 ± 2.3	AB	30.6 ± 0.5	Α	28.6 ± 2.3	AB	23.4 ± 2.1	С
Glutamato*	46.7 ± 1.7	ABC	45.9 ± 3.6	ВС	45.2 ± 3.7	С	51.5 ± 4.4	Α	51.5 ± 0.9	AB	49.8 ± 2.4	ABC	37.9 ± 1.7	D
Total*	65.2 ± 1.8	D	69.8 ± 6.5	CD	71.1 ± 6.5	BCD	79.8 ± 6.6	AB	82.1 ± 1.4	Α	78.5 ± 4.7	ABC	61.3 ± 3.8	D
Histidina**	102.9 ± 7.2	Α	14.2 ± 1.0	В	14.3 ± 1.1	В	16.2 ± 0.6	В	17.0 ± 0.6	В	15.8 ± 1.0	В	11.2 ± 1.4	В
Arginina**	$14.3 \pm 0.8$	С	20.6 ± 1.1	В	25.8 ± 2.4	Α	25.4 ± 2.9	Α	28.8 ± 2.0	Α	27.0 ± 0.6	Α	17.8 ± 1.3	ВС
Tirosina**	14.5 ± 1.1	BCD	12.8 ± 0.5	D	13.6 ± 1.1	CD	14.1 ± 0.7	CD	15.3 ± 0.1	ВС	15.5 ± 1.4	В	27.0 ± 0.5	Α
Cisteína**	17.9 ± 0.2	Α	8.7 ± 0.9	С	10.5 ± 1.5	ВС	10.5 ± 0.9	ВС	10.9 ± 1.4	ВС	12.4 ± 1.8	В	$10.0 \pm 0.4$	ВС
Valina**	8.7 ± 0.1	Α	$4.3 \pm 0.4$	С	5.1 ± 0.7	ВС	5.1 ± 0.4	ВС	5.3 ± 0.7	ВС	$6.0 \pm 0.9$	В	4.9 ± 0.2	ВС
Metionina**	34.2 ± 2.1	Α	17.1 ± 1.1	С	18.9 ± 2.1	ВС	19.3 ± 0.7	ВС	21.0 ± 0.2	В	$20.0 \pm 0.8$	В	$6.4 \pm 1.3$	D
Fenilalanina**	17.4 ± 1.8	Α	$6.2 \pm 0.8$	С	7.8 ± 1.5	ВС	6.8 ± 2.2	ВС	7.5 ± 2.1	ВС	10.7 ± 3.7	В	19.9 ± 1.8	Α
Isoleucina**	$2.3 \pm 0.0$	D	16.7 ± 1.4	С	18.5 ± 1.6	ABC	19.3 ± 0.8	AB	20.9 ± 0.2	Α	20.4 ± 2.1	Α	16.9 ± 1.4	ВС
Leucina**	15.9 ± 0.5	D	17.4 ± 0.9	BCD	19.0 ± 2.3	ABC	19.3 ± 1.1	AB	21.2 ± 1.0	Α	19.9 ± 1.0	Α	16.7 ± 1.2	CD
Lisina**	16.4 ± 0.5	D	18.9 ± 1.1	С	20.8 ± 2.3	ВС	21.2 ± 1.3	ABC	23.6 ± 1.6	Α	$22.8 \pm 0.9$	AB	18.6 ± 1.4	CD
Total **v	244.7 ± 6.0	Α	136.9 ± 6.4	D	154.3 ± 13.0	С	157.1 ± 8.8	ВС	171.6 ± 1.2	В	170.4 ± 8.6	В	149.3 ± 5.4	CD
Total AA	397.7 ± 3.2	Α	298.6 ± 17.6	Ε	326.7 ± 29.0	DE	338.3 ± 12.4	BCD	367.7 ± 13.0	AB	360.2 ± 13.8	ВС	328.4 ± 14.0	CD

<sup>+</sup> Sabor dulce, \*Sabor umami, \*\* Sabor amargo. ANOVA de una vía, seguido por la prueba de Fisher. Las letras mayúsculas indican las diferencias significativas de inicial vs. semana 12 (A > B > C >D>E)  $\alpha$  = 0.05.



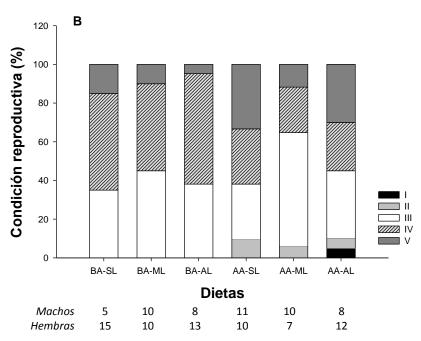


Figura 48. Condición reproductiva (%) de *S. purpuratus* alimentado con las dietas experimentales al inicio y sexta semana (A), y doceava semana de alimentación (B). En donde: BA-SL = Bajo aceite de pescado — sin lecitina de soya; BA-BL = bajo aceite de pescado — baja lecitina de soya; BA-AL = bajo aceite de pescado — alta lecitina de soya; AA-SL = alto aceite de pescado — sin lecitina de soya; AA-BL = alto aceite de pescado — alta lecitina de soya; AA-AL = alto aceite de pescado — alta lecitina de soya.

# Capítulo 4. Discusión

El erizo *Strongylocentrotus purpuratus*, es una especie que esta sobre poblando las costas del Pacífico norte. A diferencia de las otras especies de erizo con las que comparte el hábitat, como *Mesocentrotus franciscanus* y *Strongylocentrotus droebachiensis*, el erizo morado se considera subexplotado y está considerada como una especie con propósito para cultivo (Palleiro-Nayar *et al.*, 2008). Debido a la escasa información sobre los requerimientos nutricionales para alimentar a *S. purpuratus* bajo condiciones de cultivo, y ya que los estudios en otras especies se han centrado en el crecimiento gonadal y no en su calidad, este estudio, presenta información del efecto de distintos niveles de inclusión de los macronutrientes en dietas formuladas para *S. purpuratus*, sobre el aumento en el índice gonadal (IG) y la calidad gonadal. Para evaluar el efecto, se realizaron tres ensayos experimentales, en dónde; el Exp.1, hace referencia a el efecto de niveles de proteína entre 17 y 30%, con niveles de carbohidratos entre 42 y 58%, (razón de proteína/ carbohidrato); el Exp.2, hace referencia al efecto de la inclusión de tres niveles de proteína (30, 23 y 17%) y dos niveles de carbohidrato, bajo y alto (42 y 50%); y el Exp. 3, hace referencia a la inclusión de dos niveles de aceite de pescado (0 y 3%) y tres niveles de lecitina de soya (0, 2 y 4%). A continuación se discuten las variables evaluadas en los tres ensayos experimentales.

# 4.1.1 Supervivencia

La supervivencia es una de las variables que comúnmente es evaluada cuando se está buscando los niveles de nutrientes necesarios para alimentar a un organismo. Generalmente, ha sido indicado que para la determinación de requerimientos nutricionales se deben obtener supervivencias de al menos el 90% (Watts *et al.*, 2010). En este estudio, la supervivencia de *S. purpuratus* en el experimento de alimentación 1 (Exp. 1) presentó diferencias significativas por efecto de las dietas ofrecidas. Los porcentajes de supervivencia excedieron el 84% cuando *S. purpuratus* fue alimentado con las dietas que contenían entre un 17 y 26% de inclusión de proteína. En contraste, los erizos que fueron alimentados con la dieta PA-CB (30/42) presentaron una supervivencia significativamente más baja (74%).

La supervivencia de los erizos en condiciones de cautiverio, resulta ser controversial, puesto que existen estudios en dónde no se han observado diferencias en la supervivencia cuando los organismos son alimentados con dietas entre el 10 y el 50% de inclusión de proteína (McBride *et al.*, 1998; Akiyama *et al.*, 2001; Pearce *et al.*, 2002b). Mientras que hay quienes indican que los erizos pueden presentar altas mortalidades cuando se alimentan con cantidades bajas de proteína en dieta

(9-14%), como lo reportado por de Jong-Westman *et al*. (1995) en *S. droebachiensis* γ Hammer *et al.* (2004) en *Lytechinus variegatus*.

Contrario a estas investigaciones, las bajas supervivencias registradas en este estudio corresponden a organismos alimentados con cantidades de proteína alta en la dieta (30%). En el experimento de alimentación 2 (Exp. 2), la supervivencia de los organismos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) fue del 73%, pero es contradictorio que en este este mismo experimento los organismos que fueron alimentados con la dieta PA-CB (30/42) exhibieran una supervivencia del 95.5%. Por lo que al finalizar este experimento, no se atribuyeron las diferencias significativas en la supervivencia a un exceso o déficit de alguno de los macronutrientes, sino que se planteó la hipótesis que una de las causas de la baja supervivencia pudo haber sido provocada por las condiciones de traslado de los organismos de la zona de captura al laboratorio, como lo reportado por Dale *et al.* (2005).

De acuerdo a Dale *et al.* (2005) el trato brusco o inadecuado de los organismos puede ser causante de la mortalidad, por lo que para el Exp. 2 se realizó una extracción de los organismos más delicada y con mayor precaución, para asegurar la supervivencia de los organismos. Sin embargo, a pesar que su transporte fue delicado y en húmedo, se siguió registrando la misma mortalidad. Dale *et al.* (2005) indicó que en muchos de los estudios realizados con erizos de mar, en los que se reportan supervivencias del 100%, los erizos han estado aclimatados por periodos prolongados en el laboratorio y las mortalidades producidas durante de las primeras 5 semanas luego de haber realizado la extracción de los organismos no son reportadas. Por lo que se pensó que el periodo de aclimatación en el Exp. 1 y 2 (i.e. 2 semanas) fue corto, y tal vez *S. purpuratus* requería de un mayor tiempo de aclimatación. Ya que se observó que las mortalidades del Exp.1 y 2 ocurrieron durante las primeras 5 semanas de alimentación, similar a lo reportado en otros estudios (Minor y Scheibling, 1997; Siikavuopio *et al.*, 2004a; Dale *et al.*, 2005). Es por esto que en el experimento de alimentación 3 (Exp. 3) se extendió el periodo de aclimatación a 4 semanas.

Al finalizar el Exp. 3, no se obtuvieron diferencias significativas en la supervivencia de los organismos. Únicamente los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0) presentaron una supervivencia menor (86%), mientras que los organismos alimentados con las otras dietas presentaron supervivencias superiores al 93%. Hay que tener en consideración que en el Exp. 3 todas las dietas contenían 23% de proteína y 50% de carbohidratos, por lo que no se puede concluir si la baja supervivencia registrada en los ensayos anteriores haya sido por la cantidad de proteína o por el tiempo de aclimatación.

#### 4.1.2 Crecimiento

# 4.1.2.1. Diámetro de la testa y peso total

El crecimiento de un organismo es el resultado comúnmente utilizado en la determinación de los requerimientos de nutrientes. En erizos de mar, se ha indicado que el aumento del diámetro de la testa (DT) no es un parámetro muy útil como indicador de crecimiento o de producción, pero es una herramienta para una estimación rápida del crecimiento de los organismos (Watts *et al.*, 2013). Es importante que no se hayan obtenido diferencias significativas en el DT de los organismos al inicio de ningún experimento, ya que los erizos de mar con diferentes tamaños dentro de un mismo ensayo, no presentan la misma tasa de crecimiento gonadal con relación a su tamaño corporal (de Jong-Westman, 1975). Al finalizar todos los experimentos, no se presentaron diferencias significativas en el DT por efecto de la alimentación suministrada. Los erizos de mar al llegar a la adultez presentan una tasa de crecimiento somático más lenta, en donde diferencias notables pueden ser observadas cuando se evaluá este parámetro en un tiempo de experimentación más prolongado; ya que los erizos al ser adultos direccionan los nutrientes obtenidos de la alimentación a procesos más importantes en esta etapa de vida como el desarrollo y crecimiento de las gónadas (de Jong-Westman, 1975).

En este estudio se tomaron las mediciones de peso total (PT) de los organismos con la finalidad de obtener el índice gonadal (IG); en el Exp. 1 y 2 no se obtuvieron aumentos significativos en el PT de los organismos. Al finalizar el Exp. 1 la dieta PM-CM (23/50) generó el valor más alto del PT (40.5  $\pm$  2.1 g), mientras que al finalizar el Exp. 2 el mayor PT fue obtenido con la dieta PB-CA (17/50) con 59.2  $\pm$  12.6 g. En el Exp. 3, los organismos aumentaron su PT significativamente con la alimentación, en donde los erizos alimentados con la dieta AA-BL (3/2) presentaron el mayor PT (70.0  $\pm$  17.7 g).

#### 4.1.2.2. Peso de las gónadas e índice gonadal

Contrario a lo obtenido con el PT, los valores del peso gonadal (PG) incrementaron significativamente con la alimentación, comparados con los organismos al inicio de todos los experimentos. Sin embargo, en ninguno de los tres experimentos se obtuvieron diferencias significativas en el PG entre los diferentes tratamientos. En los Exp. 1 y 2 en donde se evaluó el efecto del nivel y la relación de proteína y carbohidrato en dieta, no se observó un efecto significativo en el PG, y de manera similar en el Exp. 3, evaluando el efecto de la cantidad de aceite de pescado y la inclusión de lecitina de soya no resultó en una producción diferencial en la cantidad de gónada. En erizos de mar se ha indicado que para las comparaciones en la alimentación en donde se observa como resultado el crecimiento

de las gónadas, es más apropiado utilizar la relación con el índice gonadal (IG). Lo anterior es debido a que no todos los organismos, ni las distintas especies de erizos presentan la misma tasa de crecimiento gonadal con relación a su tamaño corporal (de Jong-Westman, 1975).

La producción de gónada es un aspecto importante de la acuicultura de los erizos de mar. Un IG entre el 6 y 12% es el mínimo requerido para comercializar la gónada de *S. purpuratus* en México (Palleiro-Nayar *et al.*, 2008). George *et al.* (2000) indicaron que el alimento formulado puede incrementar el crecimiento gonadal a lo largo del año, de esta forma se puede resolver el problema de bajos IG ocasionados por la baja disponibilidad y variación en la composición del alimento en el medio natural (i.e. algas) (Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra, 2014). En este estudio en el Exp. 1, el incremento del IG durante las nueve semanas de alimentación, fue superior al 3.6%, consistente con lo obtenido por Akiyama *et al.* (2001), quienes alimentaron a *Pseudocentrotus depressus* con dietas que contenían niveles de proteína entre el 10 y el 50%. En el presente estudio durante el Exp. 1, el porcentaje de incremento del IG por semana fue de 0.6%, similar a lo obtenido por Bureau *et al.* (1997) y McBride *et al.* (1997) en *M. franciscanus* (0.6% y 1% por semana, respectivamente); Agatsuma (1998) en *S. nudus* (0.7% por semana) y Hávardsson *et al.* (1999) en *S. droebachiensis* (0.8% y 0.7% por semana).

Se observó una relación directa entre el IG de *S. purpuratus* y la cantidad de proteína en dieta en el Exp. 1, ya que conforme incrementó la cantidad de proteínas en la dieta incrementó el IG. Al finalizar el Exp. 1, los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) generaron el IG más alto (8.5 ± 2.1%). Sin embargo, este resultado no fue significativamente distinto al obtenido con las otras dietas y tampoco fue un valor pico como el obtenido en los experimentos 2 y 3. Azad *et al.* (2011), obtuvieron un IG en *S. purpuratus* del 18% cuando alimentaron a los organismos con una dieta que contenía 21% de proteína y 41% de carbohidratos durante 12 semanas. Mientras que Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) reportan que *S. purpuratus* alimentado con *M. pyrifera* con alto nivel de nutrientes (22% proteína; 33% carbohidratos y 4.6% de lípidos) generó un IG del 11% en 10 semanas de alimentación.

En el Exp. 1, existen dos razones por las cuales no se obtuvo un mayor IG. La primera es que en comparación con el Exp. 2 y 3, el IG inicial del Exp. 1 era bastante bajo (3%). La segunda corresponde al periodo de alimentación el cual fue más corto (9 semanas). De haber continuado con la alimentación hasta la semana 12, y con crecimientos gonadales como los que se venían presentando de 0.6% por semana, se habrían obtenido IG superiores y similares a los obtenidos por Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014), quienes realizaron la alimentación de *S. purpuratus* en la misma época climática del presente estudio en el Exp. 1. Cabe mencionar, que además en el Exp. 1 se realizó la

captura de organismos del medio natural durante la última semana del ensayo, para obtener datos comparativos respecto a los organismos alimentados con las dietas. Se encontró que los organismos obtenidos del medio natural presentaron IG aproximados al 3%, demostrando la efectividad de la alimentación con las dietas en el Exp.1.

En el Exp. 2, S. purpuratus presentó un incremento significativo en el IG con todas las dietas suministradas, comparado con los valores registrados al inicio del ensayo. El incremento del IG por semana fue el mismo que el obtenido en el Exp. 1 (0.6% por semana) y similar al reportado para otros erizos alimentados con dietas formuladas con composiciones similares a las de este estudio (Azad et al., 2011; McBride et al., 1997; Woods et al., 2008). Al finalizar el experimento en la semana 12, los erizos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) generaron los porcentajes más altos de IG (15.9 ± 0.9%), pero estos únicamente fueron significativamente distintos de los obtenidos en los organismos alimentados con la dieta PM-CB (23/42). En el Exp. 2 cabe resaltar los valores de IG obtenidos con las dietas que contenían baja cantidad de proteína (17%) (i.e. PB-CB y PB-CA), los cuales no fueron significativamente distintos de los IG obtenidos en los organismos alimentados con niveles de proteína del 30 y 23%; lo cual es un indicativo que con bajos niveles de proteína en dieta y altos niveles de carbohidratos, también es posible obtener producción gonadal favorable. Con esto, se contradice lo sugerido por de Jong-Westman et al. (1995); McBride et al. (1998); Fernandez y Boudouresque (2000); Agatsuma (2000); Pearce et al. (2002b); Hammer (2006); Marsh y Watts (2007); Woods et al. (2008), quienes indican que con mayores niveles de proteína incluida en la dieta se obtienen mayores índices gonadales. Los valores significativamente más bajos de IG generados por los organismos alimentados con la dieta PM-CB (23/42) son inconclusos, y dejan el interrogante de qué factor pudo haber ocasionado éstos bajos valores de IG, si al alimentar con menor cantidad de proteína se obtuvieron mayores valores de IG.

Por su parte, el PG y el IG aumentaron significativamente en el Exp. 3 desde la semana 6 de alimentación, al igual que lo ocurrido en el Exp. 1, en donde se observa un mayor aumento de ambas variables con menos tiempo de alimentación; diferente a lo observado en el Exp. 2 en donde el aumento del peso húmedo gonadal y el IG fueron más lentos. También se pudo observar que la ganancia en el IG fue mayor en el Exp. 3, respecto a los valores obtenidos en el Exp. 1 y 2; probablemente debido a la época en que se realizó cada ensayo. Por ejemplo, el Exp. 3 fue realizado en la época de invierno, en donde los organismos están preparándose para la temporada más intensa de reproducción (Enero-Marzo) (Gonor, 1973; Kenner y Lares, 1991; Palleiro-Nayar *et al.*, 2010), mientras que el Exp. 1 fue realizado finalizando el verano y el Exp. 2 terminando la primavera. En los Exp. 1 y 2 el incremento semanal del IG fue de 0.6%, mientras que en el Exp. 3 fue de aproximadamente 0.9%, similares a los obtenidos en *S. droebachiensis* (0.8%) por Hávardsson *et al.* 

(1999) y en *M. franciscanus* (1%) por McBride *et al.* (1997). En general en este estudio se puede establecer que *S. purpuratus* aumenta su IG con la alimentación y se demostró que no ocurren cambios en los estadios reproductivos, ya que los estadios de reproducción obtenidos corresponden a los reportados para esta especie en cada época de muestreo durante los tres experimentos. Debido a que los experimentos fueron realizados en distintas épocas del año aún falta estudiar los efectos de la alimentación formulada en este erizo a lo largo del año (i.e. mensual), lo que contribuiría a tener un mayor conocimiento de las diferencias que se pueden obtener cuando los organismos se encuentran en distintos estadios de reproducción, de esta forma se podrían establecer formulaciones para los distintos periodos y estrategias de alimentación con la finalidad de obtener el mayor retorno económico.

Por otra parte, los efectos de incluir suplementos como la lecitina de soya en dietas para erizo de mar, han sido poco estudiados, sobretodo en organismos en etapa adulta (Gibbs *et al.*, 2010). González-Durán *et al.* (2008) encontraron que al suministrar dietas con 3% de inclusión lecitina de soya, mejoraban el crecimiento de las gónadas en organismos juveniles de *S. droebachiensis*. Mientras que Gibbs *et al.* (2010), reportan un incremento gonadal mayor cuando alimentaron a *L. variegatus* con dos dietas que contenían 3% y 4% de inclusión de lecitina de soya (IG: 15 y 14%, respectivamente) que cuando los erizos fueron alimentados con una dieta sin suplemento de lecitina de soya (IG: 13%). En el Exp. 3, los IG no presentaron diferencias significativas entre las dietas ofrecidas, los valores de IG fueron similares, en un promedio del 20%, por lo que no se notó un efecto inducido por la inclusión de lecitina de soya, ni por la adición de aceite de pescado. Azad *et al.* (2011), reportan IG > 20% cuando alimentaron a *S. purpuratus* con una dieta que contenía el 7.9% de lípidos (dieta NIFA, fuente de lípidos no indicada). Los resultados obtenidos de este experimento son bastante positivos ya que un IG del 20% no es encontrado frecuentemente en *S. purpuratus* en la península de Baja California, y hasta el momento ha sido únicamente reportado por Palleiro-Nayar *et al.* (2010) en el mes de Diciembre en la Zona I de pesca, previo a una temporada de desove.

En relación a la cantidad de lípidos sugeridos en dieta para alimentar a los erizos de mar, varios estudios indican que la cantidad de lípidos y/o su clase no son relevantes en las dietas para estos organismos para la producción gonadal (Lawrence *et al.*, 1997; Castell *et al.*, 2004). Por ejemplo, McBride *et al.* (1999) no utilizaron lípidos (0.05%) en las dietas utilizadas para alimentar a adultos de *M. franciscanus* y obtuvieron un IG 12.2%; Hammer (2006) recomiendan utilizar 1% de inclusión en dieta de aceite de arenque para alimentar a adultos de *L. variegatus*; Kennedy *et al.* (2007) recomiendan utilizar ya sea aceite de arenque o aceite de maíz combinado con aceite de linaza, pero en inclusiones en dieta inferiores al 3% para alimentar a juveniles de *S. droebachiensis*. Por su parte, Gibbs *et al.* (2013) recomiendan incluir en dieta 1.2% de aceite de arenque y 1.2% de aceite de soya

para alimentar a adultos de *L. variegatus*. En el Exp. 3, la cantidad de lípidos totales en cada dieta fue superior a las presentadas en los anteriores estudios; independiente de la fuente utilizada de lípidos (i.e. aceite de pescado y/o lecitina de soya) el IG no fue significativamente distinto entre los tratamientos. El obtener valores de IG del 20% es un resultado importante, y es un indicativo que se pueden obtener IG altos para esta especie, además de dar una opción para utilizar fuentes de lípidos de origen vegetal sin tener un resultado adverso en el incremento del IG, esto también ayudará a reducir los costos del alimento y la presión ejercida sobre las fuentes de aceites naturales de origen marino.

#### 4.1.3 Consumo de alimento

#### 4.1.3.1. Tasa de consumo diaria

El consumo de alimento es el principal determinante de la adquisición de nutrientes y energía para la mayoría de los organismos, pero la adquisición de nutrientes dependerá del grado de digestibilidad que presenté el alimento consumido. Los organismos detienen la ingesta de alimento cuando llegan a la saciedad y los factores que pueden afectarla pueden ser la cantidad en volumen del alimento consumido, la cantidad de nutrientes ingeridos o consumo a un requerimiento nutricional, o la saciedad energética, el cual es el punto en el que se consume suficiente energía, independientemente de la fuente (Hayes *et al.*, 2016).

Se ha sugerido, que los erizos de mar que han sido alimentados con altas cantidades de proteína llegan a la saciedad de forma más rápida que aquellos que se les ha suministrado una dieta baja en proteína (McBride *et al.*, 1999; Agatsuma, 2000; Heflin *et al.*, 2016). Se ha reportado que niveles elevados (>25% peso seco) de proteína en la dieta resultan en una disminución de la tasa de consumo diaria (TCD) (Frantzis y Gremare, 1992; McBride *et al.*, 1998; Meidel y Scheilbling, 1999; Agatsuma, 2000; Fernandez y Boudouresque, 2000; Hammer *et al.*, 2004; Daggett *et al.*, 2005; Hammer *et al.*, 2006a; 2006b). Contrario a esto, en el presente estudio, la TCD no difirió significativamente entre las dietas ofrecidas. En el Exp. 1, los valores de TCD estuvieron entre 0.46 y 0.54 g alimento seco consumido por org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Resultados similares fueron obtenidos por Dale *et al.* (2005) en *S. droebachiensis* quienes registraron TCD entre 0.3 y 0.7 g alimento seco consumido por org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>; y McBride *et al.* (1999), quienes registraron valores de TCD entre 0.55 y 1.32 g alimento seco consumido por org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> al alimentar a *M. franciscanus* 1 y 3 g alimento por día, respectivamente. También se ha sugerido que los erizos de mar en el medio natural tienden a consumir más cantidad de alimento con baja cantidad de proteína para poder compensar la necesidad de este macronutriente (Hammer, 2006); pero en este estudio no se observó este patrón.

Los erizos consumieron la misma cantidad de alimento, a pesar del nivel de proteína (17 a 30%) y carbohidrato (42 a 58%) en la dieta, indicando que bajo las condiciones de este ensayo, *S. purpuratus* no ajustó su TCD para compensar un nivel dietario.

En el Exp. 2, a excepción de la dieta PA-CA (30/50), los erizos consumieron aproximadamente 0.5 g alimento consumido org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, similar a lo obtenido en el Exp. 1. Del mismo modo, en el Exp. 3 los organismos tampoco presentaron una TCD significativamente diferente entre las dietas ofrecidas y las cantidades consumidas se mantuvieron similares a los experimentos anteriores, con consumos entre 0.4 y 0.46 g alimento consumido por org<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. En contraste, Gibbs *et al.* (2010) reportan para *L. variegatus* consumos de mayor cantidad de alimento cuando se le suministró una dieta con 4% de fosfolípidos respecto a cuándo se le suministró una dieta con 3% de fosfolípidos o sin fosfolípidos; por lo que los resultados del Exp. 3 del presente estudio, sugieren que la cantidad y/o el tipo de lípido suministrado no interfieren en la cantidad de alimento consumido por *S. purpuratus*.

Las dietas ofrecidas en los tres ensayos de alimentación contenían la misma humedad (50%) y eran isoenergéticas (~4 Kcal g<sup>-1</sup>), por lo que considerando lo reportado por Hayes *et al.* (2016), puede sugerirse que en el presente estudio, *S. purpuratus* consumió alimento a saciedad de volumen (y/o cantidad) o bien que consumió alimento hasta satisfacer una cantidad requerida de energía, tal y como lo reportado por Taylor (2006) quien indicó, que la cantidad de energía disponible en el alimento afecta las tasas de ingestión y los erizos de mar generalmente tienden a alimentarse a saciedad energética igual que muchos otros organismos estudiados.

#### 4.1.3.2. Tasa de conversión del alimento a gónada

Debido a que el estudio del cultivo de erizo de mar está enfocado en la producción de las gónadas, es común hablar de la tasa de conversión del alimento en relación a la cantidad de gónada producida (TCAG) (Siikavuopio, 2009). En el Exp. 1, la TCAG se mantuvo entre 10.3 y 14.3 g alimento consumido por g incremento gonadal, estos resultados son consistentes con lo obtenido por Dale *et al.* (2005), quienes obtuvieron valores de la TCAG entre 6.8 y 18.8 en *S. droebachiensis*, cuando alimentaron a los organismos con una dieta formulada que ha sido utilizada en varios estudios con erizos de mar (i.e. NIFAR) la cual contiene 21% de proteína y 44% de carbohidrato. Por otra parte, Barker *et al.* (1998), sugirieron que es posible que una alta tasa de consumo forzá el alimento a pasar más rápido a través del intestino permitiendo menor tiempo para dar lugar a la absorción. En el presente experimento, no se observaron diferencias significativas en la tasa de consumo diario (TCD), pero los erizos que se alimentaron de las dietas PMA-CMB (26/46) y PM-CM (23/50) requirieron menor cantidad de alimento para poder producir mayor peso gonadal. También, las altas TCAG obtenidas en

el Exp. 1, hacen referencia al bajo peso húmedo de la gónada al finalizar el experimento, que como se explicó anteriormente, está vinculado a la época del año en el que el crecimiento gonadal es más bajo (Palleiro-Nayar *et al.*, 2010).

Por su parte, en el Exp. 3 las TCAG fueron más bajas que la obtenida en los experimentos anteriores. Lo anterior es producto de la cantidad de peso de gónada obtenido en este experimento, el cual presentó los valores más altos de todo el estudio. El haber obtenido los mejores valores de TCAG en el Exp. 3 puede ser a razón del estadio de reproducción en el que se encontraban los organismos (i.e. Estadios III y IV) correspondientes a la época del año (Enero - Abril). Dichos estadios son caracterizados por ser los más intensos de la gametogénesis, y en donde se obtiene la mayor producción de gónada. Específicamente con relación a la inclusión de fosfolípidos en las dietas para erizos no se cuenta con mucha información (Gibbs et al., 2010); en este experimento se pudo observar una correlación de la inclusión de aceite de pescado (R=0.6; P=0.006) con la TCAG estrecha, indicando que a mayor cantidad de esta fuente de lípidos en dieta las TCAG disminuyen. Lawrence et al. (2007) indican que el requerimiento de lípidos en los erizos de mar depende de la habilidad del organismo en sintetizarlos o adquirirlos a través de la dieta, para esto además se debe tener en consideración el estadio reproductivo de los organismos ya que en los periodos de rápido crecimiento generalmente existe un mayor requerimiento de lípidos en las dieta, porque los procesos de síntesis de novo se vuelven limitantes. Por ejemplo los costos de asimilar lípidos de los lípidos absorbidos son relativamente bajos (i.e. 480 KJ mol<sup>-1</sup>) si se comparan con los costos de energía requeridos para sintetizar lípidos a partir de los carbohidratos (i.e. 61,00 KJ mol<sup>-1</sup>) o de aminoácidos (i.e. 12,800 KJ mol $^{-1}$ ) Lawrence et al. (2007). Otero-Villanueva et al. (2004) indicaron que en Psammechinus miliaris la producción de vitelogenina requiere de cantidades considerables de energía (i.e. 40-50% de la energía celular total de los fagocitos nutritivos); por lo que se puede inferir que en el presente estudio en el Exp. 3. como la cantidad de lípidos en gónada no fue

significativamente diferente entre las dietas ofrecidas, los lípidos ofrecidos en dieta que favorecieron menores TCAG fueron probablemente utilizados como energía metabólica para la producción de gametos; además los fosfolípidos como la lecitina de soya, participan en el metabolismo sirviendo como agentes emulsificantes que facilitan la absorción y digestión de los lípidos no polares (neutros), congruente con los altos valores de CDA y los bajos valores de TCAG obtenido en los organismos alimentados con las dietas AA-BL (3/2) y AA-AL (3/4).

### 4.1.3.3. Tasa de eficiencia proteica a gónada

En el Exp. 1, la tasa de eficiencia proteica gonadal (TEPG) presentó una relación estrecha (i.e. R= 0.99, P < 0.000) con la razón de proteína y carbohidrato en la dieta, en donde se obtuvieron menores valores de TEPG cuando la razón era menor. Por ejemplo, se obtuvo 0.2 g incremento gonadal por g de proteína consumida con los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42), mientras que los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58) generaron un valor de TEPG de 0.53 g incremento gonadal por g de proteína consumida; sugiriendo los organismos procesan las proteínas de forma más eficiente cuando estas se encuentran menos disponibles. Resultados similares fueron reportados en L. variegatus por Heflin et al. (2012) quienes alimentaron con ocho dietas con niveles de proteína entre 12 y 36% y carbohidratos entre 21 y 39%. Hammer et al. (2006b) cuando evaluaron distintos niveles de proteína (i.e. 9, 20, 31%) combinados con distintos niveles de carbohidratos (35, 23 y 11%) en L. variegatus, no obtuvieron diferencias significativas en la TEPG, sugiriendo que las proteínas estarían siendo utilizadas como fuente de energía.

En el Exp. 2, la tendencia obtenida con el Exp.1. fue menos evidente, puesto que los organismos que fueron alimentados con las dietas que contenían 23 y 30% de proteína en dieta, presentaron TEPGs similares (0.4 g incremento gonadal por g de proteína consumida); sin embargo, si se observó que aquellos organismos alimentados con 17% de proteína presentaron las TEPG más altas (0.9 y 0.7 g incremento gonadal por g de proteína consumida) y además fueron significativamente distintos de acuerdo con la cantidad de carbohidrato incluido. Heflin *et al.* (2012) indicaron que la TEPG disminuye cuando el nivel de proteína en dieta aumenta, y disminuye aún más cuando la cantidad de carbohidratos también aumenta, indicando que los organismos limitan su habilidad de procesar la proteína de forma más eficiente. Lo anterior únicamente fue observado en este experimento en los organismos alimentados con las dietas que 17% de proteína y 50% de carbohidratos, ya que los organismos que fueron alimentados con 23% de proteína y 50% de carbohidratos presentaron mayores valores de TEPG que los alimentados con 23% de proteína y 42% de carbohidratos.

Por su parte en el Exp. 3, las TEPG fueron más altas que las observadas en el Exp. 1 y 2. Tomando únicamente como ejemplo de estos experimentos a los organismos alimentados con las dietas con inclusión de 23% de proteína y 50% de carbohidratos, la TEPG obtenida fue la misma (i.e. 0.4 g incremento gonadal por g de proteína consumida). En el Exp. 3. Se obtuvo una correlación significativa de la inclusión de aceite de pescado (R=0.5; P=0.017) indicando que a mayor inclusión de este ingrediente las TEPG aumentan, mientras que la correlación obtenida con la lecitina de soya fue de 0.45, esta no fue significativamente distinta entre los tratamientos. Este hallazgo es importante, dado que el estudio de la inclusión de suplementos como la lecitina de soya en dietas para erizos sobre el consumo, ha sido poco estudiada (González-Durán et al., 2008; Gibbs et al., 2010) y hasta el momento no se tenía conocimiento si pudiera tener un efecto positivo o negativo sobre el consumo y aprovechamiento de otros macronutrientes (i.e. proteína). En otros organismos de cultivo como Penaeus modon se obtuvieron mejores crecimientos y digestibilidad del alimento al suplementar con lecitina de soya (Kumaraguru-Vasagam et al., 2005) y ha sido indicado que los fosfolípidos contribuyen a mejorar la absorción en los enterocitos en el bagre Pelteobagrus fulvidraco (Lu et al., 2008). En general, en los organismos de cultivo, la TEPG, debe ser tomada en consideración, debido a que las proteínas interfieren activamente en la calidad del agua y los costos de producción del alimento. Entonces, un alimento formulado con altas TEPG efectúa una alta producción gonadal la cual es benéfica para la acuicultura de los erizos de mar.

#### 4.1.3.4. Coeficiente de digestibilidad aparente

Por otra parte, en el presente estudio, uno de los principales interrogantes era observar en qué proporción *S. purpuratus* era capaz de digerir las dietas formuladas, ya que algunos de los ingredientes no son de origen marino, como la harina de maíz, la lecitina de soya e incluso los beta carotenos. Boolootian y Lasker (1964) concluyeron que *S. purpuratus* presenta una digestibilidad de las macroalgas *M. pyrifera* (alimento usual de esta especie en California y Baja California) y *Egregia laevigata* del 80 y 60%, respectivamente; mientras que al consumir un alimento poco o no usual como las algas *Petalonia fascia* y *Halidrys dioica*, la digestibilidad obtenida se encontraba por debajo del 50%. Por lo que los resultados obtenidos del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) en los tres experimentos del presente estudio fueron bastante positivos. Por ejemplo, en el Exp. 1, los erizos que fueron alimentados con las dietas PM-CM (23/50) presentaron valores de CDA muy cercanos (75%) a aquellos registrados con *M. pyrifera* por Boolootian y Lasker (1964). En el Exp. 2, el menor CDA fue del 77% con la dieta PM-CB (23/42), superior al mayor CDA obtenido en el Exp. 1 (i.e. 75%, PM-CM (23/50)), mientras que el mayor CDA del Exp. 2, fue obtenido con la dieta PA-CA (30/50) (96%) superior a los registrados por Boolootian y Lasker (1964). La razón de proteína/ carbohidrato, resultó en generar la mayor correlación (i.e. R=0.78; *P*< 0.001) con el CDA, en donde a menor razón

de proteína/carbohidrato en dieta mayor digestibilidad de la misma, mientras que en el Exp.2 al evaluar la correlación de las proteínas y los carbohidratos por separado con los CDA, no se encontró correlación. Cabe resaltar que las altas digestibilidades son un indicativo, que este erizo a pesar de ser un organismo marino principalmente herbívoro, en cautiverio se comporta como un organismo omnívoro y presenta un complejo de enzimas que le permiten hacer uso de otras fuentes de nutrientes. También como ha sido indicado por Lawrence *et al.* (2007) los erizos de mar presentan consorcios bacterianos, además de algunos ciliados y protozoarios en el tracto digestivo que contribuyen con enzimas y ayudan a hacer más disponible algunos ingredientes para su utilización; por ejemplo Lasker y Giese (1954) obtuvieron en *S. purpuratus* cantidades de bacterias en el intestino del orden de 10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup> principalmente cocos y bacilos, lo que les permite aprovechar mejor el alimento consumido.

Por su parte, en el Exp. 3 a excepción de la dieta BA-BL (0/2), los CDA no presentaron diferencias significativas y los valores fueron superiores a 87%, mayores a los mejores resultados obtenidos en los experimentos previos con la dieta PM-CM (23/50) del Exp. 1 (75%) y a la dieta PM-CA (23/50) del Exp. 2 (80%). Resultados similares, fueron obtenidos por Azad *et al.* (2011) en *S. purpuratus*, quienes obtuvieron CDA aproximados del 80% alimentado con una dieta formulada que contenía 7.9% de lípidos (origen no especificado); y por Hammer *et al.* (2004) y Lawrence *et al.* (2009) quienes obtuvieron digestibilidades entre 83–89% en *L. variegatus* alimentado con dietas con concentraciones de proteína del 9% y 33%. En otros estudios con Strongylocentrotidos, los resultados de digestibilidad son bastante bajos; por ejemplo *M. franciscanus* presentó un CDA del 30% cuando fue alimentado con una dieta que contenía 30% de proteína y 7% de lípidos (McBride *et al.*, 1998) y Chang *et al.* (2005) obtuvieron digestibilidades del 57% y del 38% en *S. intermedius*.

Por otra parte, Hammer (2006) indicó que el CDA disminuye cuando se utiliza un nivel de inclusión de aceite de arenque y de aceite de soya del 4% en dietas para *L. variegatus*, contrario a lo obtenido en este estudio, en donde al aumentar el porcentaje de inclusión del aceite de pescado se observaron los valores más altos de CDA. Aunque no se presentaron diferencias significativas en el CDA con la mayoría de las dietas, en este experimento el CDA presentó una correlación significativa con el aceite de pescado (R=0.52; *P*=0.02). El no encontrar correlación significativa del CDA con la lecitina de soya es contrario a lo esperado, ya que la lecitina de soya, considerada un ingrediente suplementario, se le ha atribuido en otras especies como en los camarones la capacidad de contribuir a el aumento de la digestión, emulsificación y absorción de nutrientes, además de facilitar su transporte y movilización (Fenucci y Harán, 2007) y por el contrario la inclusión del aceite de pescado generó mayor influencia sobre la digestibilidad de las dietas en este experimento.

#### 4.1.3.5. Coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína

En el Exp. 1, los valores de coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína (CDAP) presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, en donde conforme disminuye la cantidad de proteína en dieta aumenta el CDAP. Específicamente, con los organismos que se alimentaron con la dieta que contenía 23% de proteína (PM-CM) el CDAP fue del 84%, similar a lo obtenido por Schlosser et al. (2005) en Parecentrotus lividus (83.8%) alimentado con una dieta que contenía el 23% proteína. Klinger et al. (1994) indica que en el erizo L. variegatus el CDAP no presenta diferencias significativas (62%) independiente del origen de la proteína (i. e. soya o harina de pescado) ofrecida en las dietas. En contraste, Hammer et al. (2004) obtuvieron que cuando L. variegatus era alimentado con dietas con mayor cantidad de proteína (33%), el CDAP aumentaba significativamente (94%); los resultados obtenidos en este estudio son opuestos a los obtenidos por Hammer et al. (2004), los valores del CDAP incrementaron conforme disminuía la cantidad de proteína suministrada. Entonces en S. purpuratus alimentado con menor cantidad de proteína en dieta, presenta mayor digestibilidad de la misma, y ya que la biodisponibilidad de un nutriente en dieta está directamente relacionada con su digestibilidad, un alto CDAP sugiere que ese nutriente está más disponible para ser utilizado en el crecimiento y en el metabolismo.

En el Exp. 2 los CDAP también aumentaron conforme disminuía la cantidad de proteína en dieta, sin embargo los valores fueron bajos, a excepción de los organismos que fueron alimentados con la dieta PB-CB (17/42), en donde se obtuvo un CDAP del 95% similar al obtenido en el Exp. 1 con la dieta PB-CA (17/58) y al reportado por Hammer et al. (2004) en L. variegatus. Esto probablemente sea ocasionado por la baja cantidad de proteína ofrecida en esta dieta en combinación con una cantidad de carbohidratos del 42%. En el Exp. 3, no se obtuvieron diferencias significativas en el CDAP, este resultado era esperado ya que en este ensayo se suministró la misma cantidad y calidad de proteína (23%). A pesar de esto, los valores de CDAP fueron relativamente bajos (i.e. 30%), comparados con los obtenidos en el Exp. 1 para estas concentraciones de proteína (i.e. 84%). Hammer (2006) obtuvo que la digestibilidad de la proteína disminuye conforme aumenta la cantidad de lípidos en dieta, esto no fue obtenido en este estudio ya que las dietas presentaban distintas cantidades de lípidos (6-10%) y los CDAP no fueron significativamente diferentes. Por ejemplo, Lasker y Giese (1954) indican que en S. purpuratus la alimentación continúa (ad libitum), como la realizada en este estudio, conlleva a una menor digestión de la misma y Watts et al. (2013) indican que la alimentación ad libitum afecta la cantidad de alimento dentro del intestino disminuyendo su tiempo de retención, lo cual limita el tiempo de actividad de las enzimas y/o micro biota para poder romper los macronutrientes y dejarlos disponibles para que el organismo pueda utilizarlos (Watts et al., 2013). Sin embargo en este estudio no se puede afirmar esto, ya que en los Exp. 1, la alimentación también fue realizada ad libitum y los

CDAP fueron altos (>80%). Entonces, ya que las correlaciones obtenidas entre el CDAP y las inclusiones del aceite de pescado y la lecitina de soya fueron muy bajas, parece ser que el bajo CDAP obtenido en los organismos del Exp.3 pueda estar más relacionado con el ciclo reproductivo, en donde el uso de las proteínas en estadios III y IV como en los que se encontraban estos organismos, no es primordial.

En general, los indicadores de consumo obtenidos en este estudio son comparables con otros estudios de alimentación en S. purpuratus (Lasker y Giese, 1954; Boolootian y Lasker, 1964; Azad et al., 2011), así como en otras especies de Strongylocentrotidos como S. droebachiensis (Dale et al., 2005; Siikavuopio, 2009), S. intermedius (Chang et al., 2005; Lawrence et al., 2009) y M. franciscanus (McBride et al., 1998; 1999) al igual que en otros erizos ampliamente estudiados como L. variegatus (Klinger et al., 1994; Hammer et al., 2006a; 2006b; Heflin et al., 2012; Watts et al., 2013) y P. lividus (Schlosser et al., 2005). Sin embargo, existen varios interrogantes en cuanto a la incorporación y uso de los macronutrientes a diferentes niveles de inclusión, su relación con los estadios del ciclo gametogénico y el papel que desempeña la flora intestinal y cómo ésta ayuda a la digestión y absorción de los nutrientes (Lasker y Giese, 1954; Nelson et al., 2010; Lawrence et al., 2013). Por esto, son necesarias más investigaciones en erizo de mar, en especial sobre el papel de las bacterias en el intestino que juegan un papel importante en la digestión en estos organismos y su respuesta a determinados nutrientes dietarios. En otras especies acuáticas, la flora intestinal puede aumentar la capacidad inmunológica, la resistencia a enfermedades, el desarrollo y salud del intestino, la absorción y la digestibilidad (Nayak, 2010), el tener conocimiento de estos factores puede ser de gran ayuda para la formulación de dietas para el cultivo de este organismo.

#### 4.1.4 Calidad gonadal

# 4.1.4.1. Textura de las gónadas

La calidad de las gónadas, además de su tamaño, es un atributo importante para considerar su valor en el mercado. Los factores a considerar en la calidad gonadal son la textura, firmeza, sabor y coloración de las gónadas (Pearce et al., 2002a, 2002b; Agatsuma et al., 2005). En el Exp. 1, la textura de las gónadas alcanzó los criterios de "mitades diferenciadas – suaves y muy suaves" en todos los tratamientos de alimentación, indicando una buena textura. En la semana 6, se observó que a excepción de los erizos alimentados con las dietas PA-CB (30/42) y PB-CA (17/58), los erizos presentaron gónadas con textura granulosa y con poca diferenciación de las mitades. Sin embargo en la semana 9 no se observaron diferencias significativas entre las dietas ofrecidas. Resultados similares fueron reportados por Pearce et al. (2004), al evaluar la calidad gonadal de S.

droebachiensis alimentado con dietas que contenían un 5.5, 13 y 23% de proteína. No obstante, en el Exp. 1, en la semana 9, se observó un aumento en la escala de textura, conforme disminuía el nivel de proteína e incrementaba el nivel de carbohidratos en la dieta. Resultados similares fueron obtenidos por Pearce et al. (2002a) cuando alimentaron a S. droebachiensis con mayor cantidad de harina de maíz; y Azad et al. (2011) encontraron que al alimentar a S. purpuratus con alimento formulado con 21% de proteína, 46.8% de carbohidratos y 7.9% de lípidos generaba gónadas con textura granulosa (i. e. escala de 3).

Por otro lado, fue interesante observar cómo al alimentar a los erizos con *M. pyrifera* no resultó favorable en cuanto a la textura gonadal producida, comparada con las dietas, con el valor inicial del experimento y con los erizos obtenidos del medio natural en la semana 9. Resultados similares fueron reportados en *S. purpuratus* por Azad *et al.* (2011) cuando alimentaron con *Saccharina latissima*, *M. integrifolia* y *Nereocystis luetkeana* y por Pearce *et al.* (2002c) cuando alimentaron a *S. droebachiensis* con *Laminaria longicruris* y *L. digitata*.

En el Exp. 2, no se observaron diferencias significativas en la textura gonadal entre los tratamientos. Sin embargo, es importante considerar que la textura mejoró notablemente en relación a los valores iniciales (i.e. escala 3-4). Al finalizar el ensayo de alimentación, la textura alcanzó los criterios de "mitades diferenciadas - muy suave" y "mitades diferenciadas - suave" (escala 1-2). Resultados similares fueron reportados por Pearce *et al.* (2002a) quienes indicaron que *S. droebachiensis* alimentado con dietas formuladas con cantidades de proteína entre 20.3 y 24.6% y harina de maíz como fuente de carbohidrato, generó gónadas con buena textura (i. e. dos segmentos diferenciados y suaves, escala 1-2). Por su parte, resultados opuestos fueron observados por Azad *et al.* (2011) en *S. purpuratus*, quienes encontraron gónadas de tipo granular y sin diferenciación de las mitades, al alimentar con una dieta formulada con 21% de proteína, 46.8% de carbohidratos y 7.9% de lípidos.

En el Exp. 3, los valores de textura gonadal disminuyeron significativamente en ambos periodos de muestreo con relación a los valores iniciales; al igual que lo ocurrido en el Exp. 2; las gónadas pasaron de ser "granulares" y no tener diferenciación de las mitades a ser "muy suaves" y con diferenciación (i.e. escala 1). Al finalizar el Exp. 3, la inclusión de lecitina y/o aceite de pescado no pareció tener efecto en la textura gonadal, pero todos los tratamientos promovieron una buena textura gonadal y generaron gónadas entre "suaves" y "muy suaves", con las mitades diferenciadas. Resultados similares fueron reportados en *S. droebachiensis* alimentado con dietas formuladas (i.e. proteína: 12 a 22%; carbohidratos: 9 a 25%; lípidos: 0.5%) (Siikavuopio *et al.*, 2007). En el presente estudio con *S. purpuratus* no se logró establecer, una relación directa entre los niveles de proteína / carbohidratos y la inclusión de aceite de pescado y lecitina de soya ofrecidos en las dietas sobre la textura gonadal.

#### 4.1.4.2. Firmeza de las gónadas

En el Exp. 1, las gónadas se clasificaron entre "firmes y muy firmes", pero no se obtuvieron diferencias significativas en la firmeza de las gónadas de los organismos entre los tratamientos. En el Exp. 2, se encontraron diferencias significativas en la firmeza de las gónadas entre los tratamientos; pero esta propiedad mejoró en las gónadas de los organismos alimentados con todas las dietas en comparación con los valores iniciales. Al finalizar el Exp. 2, los erizos que habían sido alimentados con la dieta PB-CB (17/42) presentaron gónadas "suaves" (i.e. escala 2-3), mientras que aquellos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) presentaron gónadas "muy firmes" (i.e. escala 1). Resultados similares fueron obtenidos en *S. purpuratus* por Azad *et al.* (2011) y Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) y los obtenidos en el Exp. 1. Por su parte, Pearce *et al.* (2002a) reportan que las gónadas eran más "suaves" al alimentar a *S. droebachiensis* con dietas formuladas que con el alga parda *Laminaria digitata*. Contrario a esto, Pearce *et al.* (2004) y Azad *et al.* (2011), atribuyen la suavidad de las gónadas en *S. droebachiensis* y *S. purpuratus*, al alto contenido de humedad (80%) en las gónadas cuando los organismos fueron alimentados con macroalgas, mientras que cuando fueron alimentados con dietas formuladas la humedad en las gónadas era menor (73%).

En el Exp. 3, la tendencia de la firmeza gonadal fue la de disminuir los valores en la escala, al finalizar el ensayo las gónadas pasaron de ser "muy suaves" a "firmes". Al finalizar este ensayo de alimentación, se observó una tendencia a mejorar la firmeza de las gónadas de los organismos alimentados con las dietas AA-SL (3/0) y AA-AL (3/4), es difícil atribuir una causa al por qué, estas dietas generaron mejor firmeza gonadal, ya que los resultados obtenidos con los organismos alimentados con ambas dietas no presentan ninguna característica significativamente distinta en su composición bioquímica con relación a las gónadas de los organismos alimentados con las otras dietas. La única diferencia notable, es la menor proporción de individuos en estadio III, y la mayor cantidad de individuos en estadio V, entonces es probable que la disminución en la cantidad de gametos cuando los organismos están en estadio V, le confiera mayor firmeza a las gónadas.

Varios estudios han indicado que la firmeza es una factor importante en la industria de la gónada de erizo de mar, y se ha indicado que la firmeza gonadal puede ser mejorada posterior a la extracción de las gónadas; la técnica más utilizada para mejorar la firmeza luego de la captura de los organismos es sumergirlas en una solución de potasio de aluminio KAI (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, en agua salada y fría (Reynolds y Wilen, 2000; Blount y Worthington, 2002; Pearce *et al.*, 2002a), lo cual hace que las gónadas se pongan firmes y el tejido más denso (Ásbjörnsson, 2011). Es importante resaltar que en este estudio la valoración de la escala de calidad fue realizada antes de sumergir las gónadas en la solución de

aluminio, por lo que los valores de la escala del criterio de firmeza obtenidos en los tres experimentos pueden ser incluso mejorados luego de realizar este proceso.

#### 4.1.4.3. Sabor de las gónadas

Zhao et al. (2014), indican que el sabor gonadal determina el valor comercial de las gónadas de los erizos de mar. En México, esta también es una característica que las procesadoras de erizo utilizan para determinar la compra de los erizos a los pescadores (Palleiro-Nayar et al., 2008). En el Exp. 1, las dietas generaron un sabor gonadal mejor que el obtenido en las gónadas al inicio del ensayo, incluso comparando con los organismos que fueron alimentados con M. pyrifera y con aquellos extraídos del medio natural, contrario a lo obtenido por Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra (2014) en S. purpuratus alimentado con M. pyrifera. Las gónadas obtenidas en S. purpuratus alimentados con la dieta PA-CB (30/42) presentaron los valores más altos de la escala de sabor gonadal (i.e. escala 4) y los evaluadores resaltaron el sabor amargo de las gónadas (com. personal). Como se ha resaltado en otros estudios, el sabor de las gónadas se ve afectado negativamente cuando los organismos consumen alta cantidad de proteínas (Lawrence et al., 2001; Murata et al., 2002; Pearce et al., 2002a, 2002b; Robinson et al., 2002; Siikavuopio et al., 2007) y se ha indicado que las dietas formuladas tienden a generar sabores amargos, especialmente cuando las dietas contienen harina de pescado como fuente de proteína (Pearce et al., 2002b; Kennedy et al., 2005; Woods et al., 2008). Resultados similares fueron observados en el Exp. 2, donde las dietas que contenían 30% de proteína alteraron el sabor gonadal significativamente, manteniendo las gónadas dentro de los criterios de "dulce" y "satisfactorios /blando". Así mismo, Pearce et al. (2002a), (2002b) y Woods et al. (2008), reportan que los altos niveles de proteína en las dietas afectaron el sabor gonadal en Evechinus chloroticus y S. droebachiensis, haciéndolas más amargas como lo obtenido en este trabajo.

Por otra parte, en el mercado japonés, las gónadas se prefieren con sabores dulces o umami; por esto es importante obtener gónadas con esta calidad. En el Exp. 1, los valores más bajos de la escala (más dulces) fueron obtenidos en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58) y con PMB-CMA (20/54), los cuales presentaron gónadas entre "muy bueno – muy - dulce" y "excelente - muy dulce". Del mismo modo ocurrió en el Exp. 2; en donde a pesar que se notó que las dietas formuladas ocasionaron un efecto negativo en el sabor gonadal, los organismos que fueron alimentados con las dietas que contenían 23% y 17% de proteína, resultaron en generar gónadas con sabores gonadales entre "muy buenos - muy dulces" y "buenos - dulces", manteniendo la escala de los organismos iniciales. Es probable que la alta cantidad de carbohidratos en las dietas contribuyan al sabor dulce promoviendo la acumulación de glicógeno dentro de los fagocitos nutritivos como ha sido resaltado en otros estudios (Watts *et al.*, 1998; Chen, 2005; Woods *et al.*, 2008; Eddy *et al.*,

2012). Por ejemplo, Woods *et al.* (2008) evalúo dos dietas, una con 40% proteína y 26% carbohidratos y otra con 24% proteína y 49% carbohidratos, encontrando que de acuerdo con su escala de sabor, la dieta con mayor cantidad de carbohidratos produjo gónadas con sabores "buenos", mientras que la dieta con alta proteína generó gónadas con sabores amargos. Los resultados obtenidos en este ensayo de alimentación, son comparables con los obtenido por Woods *et al.* (2008), indicando que un nivel de carbohidratos alto en la dieta disminuye el sabor amargo en las gónadas causado por el uso de las harinas de pescado. Esto debe ser considerado como una opción para mitigar el sabor amargo, ya que se considera el mayor problema relacionado con la alimentación de los erizos de mar, en donde las dietas con altas concentraciones de proteína generan sabores amargos, pero son las adecuadas para generar altos IG.

Por su parte en el Exp. 3, en el cual se utilizó la misma concentración de proteína y carbohidrato (23/50) en todas las dietas, no se encontraron diferencias significativas en el sabor entre las gónadas y era un resultado esperado. En este ensayo, cabe resaltar que tampoco se obtuvieron diferencias significativas con respecto a los valores iniciales. Esto sugiere que las dietas formuladas, no afectaron esta característica. Se observó que la dieta BA-SL (0/0) y la dieta AA-AL (3/4) resultaron en valores más altos de la escala de sabor con el paso de las semanas y finalizaron con gónadas entre "buenas y muy buenas"; mientras que las dietas BA-BL (0/2) y AA-SL (3/0) se mantuvieron sin diferencias significativas en relación al sabor inicial y produjeron gónadas entre "muy buenas y excelentesdulces". En el Exp. 3 no se obtuvo una relación estrecha entre la inclusión de aceite de pescado y/o lecitina de soya y el sabor de las gónadas; y las dietas que presentaron la mejor escala de sabor (i.e. BA-BL y AA-SL) presentaban proporciones de lípidos neutros y polares inversos, sin embargo la cantidad de lípidos total fue la misma (8%), por lo que se puede indicar que esta cantidad de lípidos en dieta contribuye a mejorar los valores de la escala de sabor de las gónadas en este erizo. El efecto que tienen los lípidos en la dieta en las características de las gónadas que le interesan al mercado comercial como textura, firmeza, color y sabor no se conocen hasta el momento; en general se indica que los alimentos que presentan una alta cantidad de lípidos suelen ser más agradables al paladar humano (Gibbs, 2011), en este ensayo cabe resaltar que los evaluadores destacaron la cremosidad de las gónadas en este experimento e hicieron comparaciones con su similitud a la del aguacate. Sin embargo, como se menciona más delante, la cantidad de lípidos totales en gónada no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. También en este estudio se pudo observar que los organismos alimentados con la lecitina de soya, presentaron valores de escala de sabor gonadal más alta; Riaz (2005) indica que en alimentos en donde se incorporan productos de la soya se enfrentan a desafíos importantes como prevenir la generación de nuevos sabores no agradables al paladar humano "off-flavors", en específico los fosfolípidos como la lecitina de soya han estado vinculados con causar sustancias oxidativas; la autoxidación de los ácidos grasos insaturados en la lecitina comercial producen compuestos "off-flavor" al igual que sus principales componentes, la fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y el fosfatidilinositol, los cuales en términos de sabor actúan de forma similar que las proteínas (Riaz, 2005).

### 4.1.4.4. Color de las gónadas

Aunque se ha indicado que la coloración de las gónadas no afecta su valor nutrimental, si afecta el comportamiento del consumidor. Ya que las gónadas de los erizos se sirven en su mayoría como alimento crudo para sushi; por lo que su coloración va afectar el precio comercial (Chen et al., 2013). Gónadas con coloraciones amarillas brillantes o anaranjadas brillantes tienen un alto valor comercial, en los erizos de mar, los carotenos son los responsables de generar estas coloraciones.

En los animales, los pigmentos específicamente los carotenoides son antioxidantes y compuestos pro vitamina A que deben ser absorbidos del alimento y transportados a los tejidos objetivos en donde son tomados y estabilizados para llevar a cabo su función fisiológica. Es decir, los animales no sintetizan *de novo* los carotenoides y los que se encuentran en los animales como en las gónadas de los erizos, son acumulaciones de pigmentos adquiridos de alimentos como las macroalgas y que son modificados estructuralmente a partir de reacciones metabólicas para el cumplimiento de funciones biológicas (Griffiths y Perrott, 1976; Tsushima y Matsuno, 1990; Borisovets *et al.*, 2002; Symonds *et al.*, 2007; Symonds *et al.*, 2009). Los pigmentos, especialmente el β-caroteno, tienen funciones de protección foto-oxidativa en las gónadas de los erizos, mejoran el desarrollo de los gametos (Taylor *et al.*, 2014), y estimulan el sistema inmune (Kawakami *et al.*, 1998). De acuerdo con Lawrence *et al.* (2001), la coloración de las gónadas es el criterio de mayor importancia para el mercado, un color incorrecto o variable en el punto de venta tiene un efecto negativo en el valor económico de las gónadas de todas las especies. Es por esto, que el costo efectivo de las dietas que mejoran el color de las gónadas es el éxito de la industria ericera.

Varios estudios indican que mientras las dietas formuladas son exitosas en incrementar el IG, tienden a fallar en producir gónadas con coloraciones óptimas (Cook *et al.*, 1998; Barker *et al.*, 1998; Grosjean *et al.*, 1998; Watts *et al.*, 1998). Es por esto que muchos estudios se han enfocado en mejorar la coloración de las gónadas mediante la evaluación de distintos pigmentos (Robinson *et al.*, 2002; Pearce *et al.*, 2003; Agatsuma *et al.*, 2005) y se ha observado que los erizos alimentados con dietas formuladas que carecen de pigmentos tienen como resultado la producción de gónadas sin pigmentación (Barker *et al.*, 1998; Kennedy *et al.*, 2005). En este estudio no se encontraron diferencias significativas en la coloración de las gónadas entre las distintas dietas ofrecidas, al igual que lo obtenido por Siikavuopio *et al.* (2007) en *S. droebachiensis*, quienes suplementaron β-

caroteno en la dieta. Pearce *et al.* (2002a) utilizaron  $\beta$ -caroteno a 0.02% o 200 mg kg<sup>-1</sup> en dietas y esta cantidad produjo gónadas con coloraciones en la escala de color menores a 2. Estos autores, sugirieren que el  $\beta$ -caroteno es uno de las fuentes de pigmento más efectivo para generar una coloración deseada en las gónadas de *S. droebachiensis*. En los tres experimentos de alimentación realizados en este estudio, las dietas contenían la misma inclusión de  $\beta$ -caroteno (1.4%) y las gónadas lograron una coloración en la escala menor de 2 (i.e. amarillas-anaranjadas pálidas o brillantes).

En el Exp. 1, cabe resaltar que la escala de coloración obtenida de los organismos alimentados con *M. pyrifera* y los extraídos del medio natural presentaron valores superiores a los iniciales (i.e. marrones-pálidas). La coloraciones marrones-pálidas son resultado de la acumulación de β-caroteno en las gónadas, esto es un indicativo que los organismos no realizaron la transformación del β-caroteno a equinenona (pigmento mayoritariamente encontrado en las gónadas) y aunque estas características pueden ser observadas en organismos juveniles, es más comúnmente observado en individuos de mayor edad que han perdido el esfuerzo reproductivo (Agatsuma *et al.*, 2005). Entonces la alimentación suministrada a los organismos del Exp.1, es favorable, ya que aunque no se obtuvo una diferencia significativa en la coloración de las gónadas ente los tratamientos, los valores de la coloración de las gónadas de los organismos alimentados con las dietas PA-CB (30/42), PMB-CMA (20/54) y PB-CA (17/58) presentaron una disminución en la escala de criterios, indicando una tendencia a mejorar la coloración, manteniéndose en una escala por debajo de 2 (i.e. pálidas-brillantes).

En el Exp. 2, sí se observó una tendencia significativa de disminución de la escala de color conforme avanzaba el periodo de alimentación. Las gónadas pasaron de presentar coloraciones "amarillas-café/ anaranjadas – café" a estar entre "amarillas o anaranjadas pálidas" y "amarillas o anaranjadas brillantes". Los erizos que fueron alimentados con la dieta PM-CA (23/50) se destacaron por presentar gónadas con mejor coloración durante todo el experimento, a pesar que las concentraciones de pigmento eran iguales en todas las dietas (i.e. Amarillas o anaranjadas brillantes), al igual que lo obtenido por Pearce *et al.* (2002a) quienes obtuvieron mejores coloraciones gonadales al alimentar a *S. droebachiensis* con piensos basados en almidón y  $\beta$ -caroteno.

Por otra parte, en el Exp. 3, los valores de la escala de color de las gónadas disminuyó significativamente al finalizar el ensayo con todas las dietas ofrecidas; las gónadas de los organismos pasaron de presentar coloraciones "amarillas-anaranjadas marrones" a ser "amarillas-anaranjadas brillantes", indicando que no ocurrió ningún efecto provocado por la inclusión de aceite de pescado y/o lecitina de soya, pero si un efecto positivo con la alimentación formulada, contrario a lo obtenido por Azad *et al.* (2011) quienes obtuvieron en *S. purpuratus* coloraciones entre marrones y pálidas al

alimentar con una dieta formulada. McBride *et al.* (2004) reportaron que en *M. franciscanus* las diferencias en el color de las gónadas ocurren dependiendo de la temporada, sugiriendo que los erizos presentan la habilidad de tomar más o menos carotenoides de acuerdo con el estadio reproductivo, en donde los estadios I, II, y V, se caracterizan por la pérdida de carotenos en las gónadas. Esto puede indicar los buenos resultados obtenidos en la coloración de las gónadas de los organismos en el Exp. 3 en donde la mayoría de organismos se encontraban en estadios de desarrollo III y IV, caracterizados por la mayor acumulación de carotenos en gónada.

La escala de coloración mediante la obtención de las coordenadas CIE *L\*a\*b\**, es ampliamente utilizada en la industria de alimentos. En este estudio en ninguno de los tres experimentos se obtuvieron diferencias significativas para la luminosidad de las gónadas, al igual que lo obtenido en la escala de color subjetiva, indicando que las dietas no afectaron la coloración de las gónadas. Resultados similares fueron obtenidos en *S. droebachiensis* por Siikavuopio *et al.* (2007), quienes tampoco obtuvieron diferencias significativas en la coloración de las gónadas por efecto de un cambio en la cantidad de proteínas (12 a 22%) y carbohidratos (9 a 25%) en las dietas. James *et al.* (2004) indica utilizar como medida de comparación del color de las gónadas con los estándares de color gonadal para un mercado Japonés el abanico de color de yemas de huevo de DSM, específicamente las cartas 8 y 12, debido a su similitud con los colores requeridos por este mercado.

Los valores de luminosidad (*L*\*), los cuales son indicativo de que tan brillante y/o luminosa es la gónada, presentan valores de (*L*\*) entre 71 y 79 para las cartas del abanico de color. En este estudio, los valores de *L*\* obtenidos en las gónadas en el Exp. 1 se mantuvieron entre 40 y 50; en el Exp. 2. se encontraron entre 48 y 55, y en el Exp. 3. se encontraron entre 55 y 65. Estos resultados similares a los obtenidos por Woods *et al.* (2008) en *E. chloroticus* (i.e. 50); Chen *et al.* (2013) en *Tripnesutes gratilla* (i.e. 52) y superiores a los obtenidos por Robinson *et al.* (2002) y Azad *et al.* (2011), quienes obtuvieron valores de 45 en *S. droebachiensis* y *S. purpuratus*, respectivamente. Por su parte, Pearce *et al.* (2004) obtuvieron valores un poco más altos de 45 en *S. droebachiensis* y Cook y Kelly (2009) obtuvieron un valor de 43 en *Paracentrotus lividus* alimentado con mejillones y macroalgas. Por lo que los valores de luminosidad de las gónadas de *S. purpuratus* no son alejados de lo que se puede obtener en otras especies de importancia comercial como *S. droebachiensis* y por el contrario son muy cercanos a las cartas de color estándar.

Los valores de  $a^*$  son indicativo de que tan roja esta la coloración de las gónadas. Por ejemplo, la carta de color estándar 8 presenta unos valores de  $a^*$  alrededor de 18 y la carta 12 presenta valores de 34. En este estudio, los valores de matiz ( $a^*$ ) obtenidos en el Exp. 1 y 2 no presentaron diferencias significativas entre las dietas ofrecidas y sus valores fueron mayores a 15. En el Exp. 3 se obtuvo que

la alimentación afecto los valores de  $a^*$  disminuyéndolos significativamente con relación al valor inicial al igual que lo obtenido por Pearce et~al.~(2004) en S.~droebachiensis. Sin embargo, en este estudio no se notó una diferencia en los valores de  $a^*$  por efecto de las dietas ofrecidas y los valores estuvieron alrededor de 15, al igual que los dos experimentos anteriores e indicando mayor cercanía los valores de la carta estándar 8.~ Valores similares a los obtenidos en este estudio fueron encontrados por Woods et~al.~ (2008) en et~al.~ (2008) en et~al.~ (2007) en et~al.~ (2007) en et~al.~ (2011) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2015) en et~al.~ (2013) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2014) en et~al.~ (2015) en et~al.~ (2015) en et~al.~ (2016) en et~al.~ (2016) en et~al.~ (2017) en et~al.~ (2018) en et~al.~ (2018

Por otra parte, los valores de  $b^*$  son indicativo de que tan amarilla esta la coloración de las gónadas, y este valor en combinación con el valor de  $a^*$  es lo que provoca coloraciones de las gónadas anaranjadas, amarillas-anaranjadas o amarillas. Por ejemplo, la carta de color estándar 8 presenta unos valores de  $b^*$  alrededor de 81 y la carta 12 presenta valores de 70. En el presente estudio, en el Exp. 1 los valores de  $b^*$  no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, y los valores estuvieron entre 27 y 38. Mientras que en el Exp. 2 sí se observó un aumento significativo en relación al valor inicial y además se obtuvieron diferencias significativas por efecto de las dietas ofrecidas. Los erizos que fueron alimentados con las dietas PM-CB (23/42) y PM-CA (23/50) presentaron los valores más altos de  $b^*$  (38.1  $\pm$  12 y 38.5  $\pm$  8, respectivamente), mientras que aquellos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) generaron gónadas con los menores valores de b\* (i.e. 27) indicando que valores intermedios de proteína (23%) son propicios para favorecer el aumento de los valores de esta variable. Aunque el transporte y acumulación de pigmentos en las gónadas de los erizos no ha sido estudiada con relación a la inclusión de macronutrientes en la dieta, no es claro por qué la inclusión de 23% de proteína resulta más favorable, sin embargo si se ha indicado que en E. choloroticus, los carotenoides para mejorar la solubilidad forman complejos con otras moléculas, generalmente proteínas y cuando se transportan en el plasma pueden incorporarse en glicoproteínas que forman complejos de elevado peso molecular (Pilbrow et al., 2012).

Al finalizar, en el Exp 3, los valores de  $b^*$  no presentaron diferencias significativas y se mantuvieron en valores entre 35 y 40. Hay que tener en consideración que en este experimento la cantidad de proteína y carbohidrato era la misma en todas las dietas y aunado a que estos niveles de inclusión fueron los que propiciaron el aumento de los valores de  $b^*$  en los ensayos anteriores, posiblemente ésta sea la razón por la que en este experimento se hayan obtenido valores significativamente altos. Al igual que con las proteínas, en E. choloroticus los carotenos también forman complejos con lípidos de membrana. Por ejemplo, los carotenoides inmersos en la bicapa lipídica son protegidos por la naturaleza anfipática de los fosfolípidos y cuando se transportan en el plasma pueden incorporarse

en lipoproteínas y glicoproteínas que forman la lipovitelina (Pilbrow  $et\ al.$ , 2012). En relación a otras investigaciones, los valores obtenidos de  $b^*$  en este estudio son superiores a los obtenidos por Chen  $et\ al.$  (2013) en  $T.\ gratilla$  (i.e. 31); Cook y Kelly (2009) en  $P.\ lividus$  (i.e. 29), Pearce  $et\ al.$  (2004) en  $S.\ droebachiensis$  (i.e. 30 y 35), Siikavuopio  $et\ al.$  (2007) en  $E.\ chloroticus$  (i.e. 25-30) y Azad  $et\ al.$  (2011) en  $S.\ purpuratus$  (i.e. 25-30). Mientras que valores relativamente bajos fueron obtenidos por Taylor  $et\ al.$  (2014) y Robinson  $et\ al.$  (2002) en  $S.\ droebachiensis$  (15 a 20 y 15 a 17, respectivamente).

Los valores de CIE  $L^*a^*b^*$  son un indicativo de hacía que color esta inclinada la coloración de las gónadas de los organismos, sin embargo los resultados de la diferencia de color total ( $\Delta E_{00}$ ) indican el porcentaje de diferencia obtenida entre la coloración de la gónada y la carta de color estándar, es así como a menores porcentajes de  $\Delta E_{00}$  gónadas más cercanas a una coloración óptima para el mercado japonés (James et al., 2004). En el presente estudio, en el Exp. 1. al comparar las gónadas de los organismos obtenidos del medio natural al finalizar el experimento y las gónadas de los organismos alimentados con las dietas, se puede inferir que los organismos que fueron alimentados con las dietas se vieron favorecidos por la alimentación ya que las  $\Delta E_{00}$  observadas en los erizos del medio natural estuvieron por encima del 50%, mientras que las  $\Delta E_{00}$  observadas en los erizos alimentados con las dietas estuvieron entre el 30 y 40% para la carta 8 y entre 25 y 30% para la carta 12. Indicando que los organismos de los tratamientos del Exp. 1 presentan color de las gónadas con mayor similitud a la carta estándar 12 (amarillas-anaranjadas).

En el Exp. 2, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, la dieta PM-CA (23/50) resultó en generar gónadas con coloraciones más cercanas a las cartas de color estándar amarilla  $(\Delta E_{00} = 24.1 \pm 6.0)$  y amarilla- anaranjado  $(\Delta E_{00} = 18.4 \pm 5.3)$ , congruente con los resultados obtenidos de los valores de  $L^*a^*b^*$  para los organismos alimentados con esta dieta. Al finalizar en el Exp. 3 la  $\Delta E_{00}$  fue significativamente diferente entre los tratamientos con ambas cartas de color. En este experimento, la inclusión de lecitina de soya en las dietas ocasionó un efecto positivo en la coloración gonadal. Los organismos que consumieron las dietas BA-BL, BA-AL y AA-AL generaron gónadas más cercanas a la carta de color 8 (20%) y a la carta de color 12 (15%). En específico las coloraciones más cercanas a las cartas de color fueron obtenidos en los organismos alimentados con una inclusión de lecitina del 4%, en donde los organismos alimentados con la dieta AA-Al presentaron gónadas con una  $\Delta E_{00(8)}$ = 18.6 ± 4.7 y los organismos alimentados con la dieta BA-AL presentaron gónadas con una  $\Delta E_{00(12)}$ =13.8 ± 4.2. Hasta el momento el único estudio que presenta similitudes tan altas como las obtenidas en este estudio en el Exp. 3, es el reportado por Woods et al. (2008), quienes obtuvieron valores de  $\Delta E_{00}$  del 20 y 30% (amarilla – anaranjada) en las gónadas de E. chloroticus. Como se mencionó anteriormente, es posible que el transporte de los carotenos a las gónadas se vea favorecido por los fosfolípidos suministrados en la dieta (i.e. lecitina de soya), ya que estos son inmersos en la bicapa lipídica, protegidos por los fosfolípidos de la oxidación y posteriormente transportados para cumplir su funcionalidad en las gónadas como agentes protectores de la foto-oxidación y ayudadores del desarrollo de gametos (Taylor *et al.*, 2014).

# 4.1.5 Composición bioquímica de las gónadas de S. purpuratus

Cada vez más, las proteínas de origen marino cobran mayor importancia y hoy en día son consideradas una fuente importante de proteína de alta calidad para el consumo humano (FAO, 2016). Sin embargo, la calidad de la proteína animal de origen marino, dependen principalmente de lo que haya consumido el propio organismo, de la temporada de su captura y en algunas especies el sexo es determinante. En el medio natural, se ha observado que los erizos de mar presentan gónadas con composición bioquímica dependiente de la época climática, de la cantidad y calidad de alimento y del estadio reproductivo en el que estos organismos se encuentren (McClintock y Pearse, 1987; Fernandez, 1997), por lo que es importante tener conocimiento de cómo influye la alimentación con dietas formuladas en la composición de las gónadas, cuando los organismos están bajo condiciones controladas.

Se ha indicado, que en general, las gónadas están compuestas por cantidades importantes de proteína (20-40%), cantidades relativamente abundantes de lípidos (6-18%) y cambios importantes en la cantidad de carbohidratos (18-55%), los cuales están vinculados con la condición reproductiva del organismo (Montero - Torreiro y García- Martínez, 2003; Senaratna *et al.*, 2005; Hammer, 2006). En los tres experimentos de este estudio, la composición de las dietas ofrecidas generó cambios significativos en la composición bioquímica de las gónadas de los erizos, así como lo reportado por otros autores (Fernandez, 1997; Hammer, 2006). En general, en el presente estudio se observó que las proteínas y el ELN son los componentes principales en las gónadas de los erizos alimentados con las dietas formuladas, mientras que los lípidos y las cenizas se encontraron en menor cantidad. Estos resultados son congruentes con lo obtenido en *L. variegatus* en donde un aumento de la cantidad de proteína y carbohidrato en dieta, resulta en un mayor almacenamiento de ambos macronutrientes (Yuan, 2016).

## 4.1.5.1. Cantidad de proteínas en gónada

En el Exp. 1, las dietas efectuaron un aumento en la cantidad de proteínas en gónada en la semana 6 con relación al valor inicial, pero el nivel de proteína en dieta no efectuó ninguna diferencia significativa en la cantidad de proteína en gónada. Estos resultados concuerdan con lo observado por Senaratna et al. (2005) en S. droebachiensis, Fernandez (1997) en P. lividus y McBride et al. (1998)

con *M. franciscanus*, quienes indicaron que independiente del nivel de proteína ofrecido en las dietas, la cantidad de proteína obtenida en las gónadas fue similar. Sin embargo, en el Exp. 1, en la semana 9, el contenido de proteína continuó aumentando respecto al valor inicial, y los erizos alimentados con la dieta PMB-CMA (20/54) presentaron la mayor cantidad de proteína en gónada (49.7 g por 100 g gónada seca), mientras que los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58) presentaron la menor cantidad de proteínas (30.7 g por 100 g gónada seca). Este resultado es similar al obtenido por Liyana-Pathirana *et al.* (2002a) quienes reportaron en *S. droebachiensis* una cantidad de proteína en gónada menor (32.2 g por 100 g gónada seca) cuando los organismos fueron alimentados con una dieta con bajo nivel de proteína (13%) y alto de carbohidrato (66%).

Al igual que para el Exp. 1, en el Exp. 2, la cantidad de proteína en gónada, presentó cambios significativos desde la semana 9 por efecto del tipo de dieta consumida por los erizos. En la semana 12, el aumento de la cantidad de proteínas en gónada fue significativo los organismos que fueron alimentados con la dieta PB-CB (17/42) presentaron una menor cantidad de proteínas. Probablemente la baja cantidad de ambos macronutrientes haya ocasionado este efecto; ya que los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/50) presentaron la cantidad más alta de proteína en gónada (45.1 g por 100 g gónada seca).

En el Exp. 3, se esperaba que la cantidad de proteínas y de ELN en las gónadas de los organismos no presentaran cambios significativos, ya que todas las dietas contenían 23% de proteína y 50% de carbohidratos. A pesar de esto, resultados diferentes, fueron obtenidos en los organismos alimentados con alta cantidad de aceite de pescado, en donde se obtuvo una correlación positiva (R=0.53; *P*=0.02), indicando que a mayor cantidad de aceite de pescado en la dieta, la cantidad de proteínas en gónada aumenta. Mientras que comparando con la muestra inicial, se observó una disminución de la cantidad de proteínas al alimentar con las dietas con baja cantidad de aceite de pescado. Ya que los coeficientes de digestibilidad de la proteína, la cantidad de lípidos en gónada y la cantidad de ELN en gónada obtenidos de este experimento no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos al finalizar el ensayo, es probable que los organismos que se estuvieron alimentando con menor cantidad de lípidos (6%), hayan utilizado preferentemente las proteínas como fuente de energía, mientras que cuando se les suministró altas cantidades de lípidos (>8%) las proteínas no fueron catalizadas.

# 4.1.5.2. Cantidad de ELN en gónada

Hammer (2006) indicó que en *L. variegatus* se encontró una relación directa entre el almacenamiento de los carbohidratos en gónada y el contenido de carbohidratos en la dieta. En el

Exp. 1 se obtuvo una correlación (R= 0.58, *P*=0.02) de la razón de proteína/carbohidrato con la cantidad de ELN en gónada, indicando que a mayor cantidad de carbohidratos y menor cantidad de proteína en dieta, el ELN aumenta significativamente en las gónadas. Dentro de las diferencias más notorias de los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58), es la cantidad de ELN obtenida en las gónadas, la cual permaneció alta en la semana 6 (62 g por 100 g gónada seca) y en la semana 9 (55 g por 100 g gónada seca). Esto también pudo ser apreciado en los organismos al inicio del ensayo y los obtenidos del medio natural en la semana 9, los cuales presentaban cantidades de ELN elevadas (72 y 75 g por 100 g gónada seca). Heflin *et al.* (2016) sugirieron que en el medio natural, los erizos se encuentran limitados de alimento y la composición nutrimental de su alimento natural varía y es impredecible, por lo anterior los erizos consumen y almacenan más carbohidratos para compensar la posibilidad de un déficit posterior de este macronutriente.

Se ha reportado que los erizos almacenan carbohidratos primordialmente en las gónadas y en una menor cantidad en la testa y el intestino (Marsh y Watts, 2007). Cuando las gónadas presentan más del 40% de carbohidratos, el glicógeno es el mayor constituyente de carbohidratos en las gónadas (entre 50 y 75%) durante las etapas tempranas del desarrollo gonadal (Marsh y Watts, 2001). Es probable que las cantidades elevadas del ELN sean comunes en *S. purpuratus* durante una etapa temprana de la gametogénesis como en la observada en estos organismos en el Exp. 1. Así mismo, el bajo peso de las gónadas, puede ser un indicativo, de la falta de alimento disponible en el medio natural que conlleve a que la mayor reserva de energía en estas condiciones sea casi exclusiva del ELN, su principal sustrato energético.

En el Exp. 2, la cantidad de lípidos obtenida en las gónadas fue más baja, y esta disminución se vio asociada a un aumento en el ELN. En contraste, Jaeckle, (1995); McEdward y Miner, (2007) y McEdward y Morgan, (2001), reportan que la cantidad de carbohidratos que observaron en las gónadas de los equinodermos era alrededor del 5%, mucho más baja que los valores observados en el presente estudio (28 a 54.9 g por 100 g gónada seca). Sin embargo los valores de ELN fueron más bajos a los observados al inicio del experimento (72 g por 100 g gónada seca). Así mismo, en el Exp. 2, la inclusión de carbohidratos (42 o 50%), pareció no tener un efecto significativo en la deposición de los mismos en las gónadas, independiente de la cantidad de proteína incluida. En el Exp. 3. se obtuvo que independiente de la forma y cantidad de lípido, estos nutrientes no tuvieron un efecto sobre la cantidad observada de ELN en gónadas. Ya que las dietas presentaban la misma cantidad de carbohidratos y proteínas los resultados obtenidos eran los esperados.

#### 4.1.5.3. Cantidad de lípidos en gónada

En el Exp. 1. Se observó una correlación alta en relación a la razón de proteína y carbohidrato incluido en las dietas (R= 0.61; *P*=0.01) y la cantidad de lípidos en las gónadas obtenidas, indicando que a mayor cantidad de proteína y menor cantidad de carbohidratos, la cantidad de lípidos en gónada aumenta. Así mismo, los valores de lípidos aumentaron en relación a los valores iniciales (2.7 g por 100 g de gónada seca), excepto para aquellos organismos que fueron alimentados con la dieta PB-CA (17/58), los cuales presentaron composiciones similares a las obtenidas en los organismos alimentados con *M. pyrifera* y los obtenidos del medio natural en la semana 9 (12.2 g por 100 g de gónada seca). Estos resultados son similares a los obtenidos por Liyana-Pathirana *et al.* (2002a) quienes registraron en *S. droebachiensis* una cantidad de lípidos en gónada de 15.5 g por 100 g de gónada seca alimentado con una dieta que contenía 13% de proteína y 66% de carbohidrato. En general, al finalizar el Exp. 1. la cantidad de lípidos en gónada se presentó por encima de 20 g por 100 g de gónada seca.

En contraste, la cantidad de lípidos en gónada obtenidas en los experimentos 2 y 3 resultaron por debajo de 7 g por 100 g de gónada seca. En el Exp. 2, en la semana 12, la mayor cantidad de lípidos se observó en los erizos que fueron alimentados con la dieta PB-CA (17/50) (6.2 g por 100 g de gónada seca). Mientras que en el Exp. 3, en donde se esperaba que al utilizar distintos tipos y cantidad de lípidos se observaría un cambio significativo en la cantidad de lípidos en las gónadas, sin embargo esto no ocurrió. Las cantidades de lípidos en las gónadas de los organismos alimentados con las distintas dietas se mantuvieron sin diferencias significativas, incluso con relación a la muestra inicial, en donde la mayor cantidad de lípidos en gónada corresponde a los alimentados con la dieta AA-BL (6.4 g por 100 g de gónada seca). Resultados similares han sido reportados por Senaratna et al. (2005), quienes observaron que en Heliocidaris erythrograma no hubo cambios significativos en la composición de lípidos de las gónadas independiente de la dieta suministrada. de Jong-Westman et al. (1995) en S. droebachiensis alimentado con dietas con cantidad de proteínas de 10 y 20% y misma cantidad de lípidos (cantidad de carbohidratos y lípidos no especificado) observaron un aumento significativo en la cantidad de lípidos en gónada (21 g por 100 g de gónada seca), en los meses de época reproductiva, (i.e. invierno), indicando que el cambio de a cantidad de lípidos fue por la época del año, en donde las gónadas acumulan preferiblemente lípidos. En contraste, Montero-Torreiro y García-Martínez (2003) reportaron que en P. lividus en el medio natural la variación en el contenido de los lípidos en las gónadas con relación a la estacionalidad era menos evidente, con una variación entre 15 y 12 g por 100 g de gónada, mientras que la cantidad de proteínas y glicógeno en gónada cambian significativamente a lo largo del año entre el mismo rango de cantidades (36 y 60 g por 100 g de gónada seca).

En el presente estudio, el Exp. 1 fue realizado en la época de Julio a Septiembre (i.e. verano), en donde la cantidad de lípidos en gónada aumentó significativamente y las gónadas de los erizos se encontraban en estadio I y II, estadio en el cual se acumulan reservas para la gametogénesis. Mientras que en los experimentos 2 y 3, que fueron iniciados en Abril y Diciembre, respectivamente; los erizos se encontraban en estadios más avanzados de la gametogénesis y la cantidad de lípidos obtenida fue menor, mostrando un almacenamiento preferente de la cantidad de ELN. Liyana-Pathirana *et al.* (2002a), indican que una disminución en la cantidad de carbohidratos y lípidos en las gónadas de los erizos puede ser debida a la ingesta de diferentes tipos de comida o a la transformación de azúcares y lípidos a glicógeno para aumentar las reservas requeridas para la maduración gonadal.

### 4.1.5.4. Cantidad de cenizas en gónada

En el presente estudio la cantidad de cenizas cuantificada varió de 0.3 y 6.3 g por cada 100 gramos de gónada seca. En el Exp. 1, no se encontraron cambios significativos con relación a los valores iniciales, mientras que en el Exp. 2, se obtuvo un aumento de las cenizas al finalizar la semana 12 y esta no fue diferente entre los tratamientos. Por último, en el Exp. 3, se observó un aumento significativo de las cenizas en la semana 6 de alimentación pero sin diferencias entre los tratamientos. De los tres experimentos realizados únicamente en el Exp. 2 se obtuvo una correlación significativa (R= 0.48; P=0.03) de las cenizas con la inclusión de carbohidratos, ya que a mayor cantidad de carbohidratos en dieta se encontró mayor cantidad de cenizas en gónada. Los resultados obtenidos de los tres experimentos son similares a los registrados por Fernandez (1997), quien no encontró diferencias significativas en el contenido de ceniza de las gónadas en individuos adultos de P. lividus alimentado con dietas que contenían 58%, 35%, o 16% de carbohidrato durante 6 meses. Las cantidades de cenizas obtenidas en el presente estudio, fueron bajas, en relación con las obtenidas por Liyana-Pathirana et al. (2002a), quienes reportaron en S. droebachiensis una cantidad de cenizas en gónada de 5.7% cuando fue alimentado con una dieta 13% de proteínas y 66% de carbohidratos y por Gibbs (2005) quien reportó para L. variegatus alimentado con una dieta de 33% de proteínas porcentajes de ceniza de 4.8% y 5.5% para hembras y machos, respectivamente.

Hammer (2006) indica que un ligero pero significativo aumento en la cantidad de cenizas en gónada puede reflejar el almacenamiento y utilización de estos minerales esenciales para la producción de gametos. Por su parte, Greenfield et al. (1958) indican que la cantidad de cenizas en gónada tiende a ser mayor en las épocas más intensas de la gametogénesis (i.e. estadios III y IV) debido a la necesidad de sales inorgánicas para la formación de células y tejidos. Lo anterior se puede comparar con lo obtenido en el presente estudio, ya que, en el Exp. 1 los organismos se encontraban en su mayoría

en estadio I y II del ciclo gametogénico y las cenizas se mantuvieron alrededor de 2 g por cada 100 g de gónada seca. Cantidad similar de cenizas fue obtenida en las gónadas de los organismos en el Exp. 2 (1.9 g por cada 100 g de gónada seca), pero en este experimento los organismos se encontraban en su mayoría en estadios V y I. Por su parte, en el Exp. 3, las cenizas aumentaron a 3 g por cada 100 g de gónada seca en donde los organismos se encontraban en su mayoría en estadio II y III. El aumento en la cantidad de cenizas en el Exp. 3 es congruente por lo expresado por Greenfield *et al.* (1958) y con lo reportado para otras especies como *Penaeus vannamei* en donde las cantidades de varios minerales aumentan en estadios avanzados de la reproducción, pero especial atención debe ser tomada, ya que en esta misma especie de camarón otros minerales como el Cobre, Zinc, Hierro, Magnesio y Calcio se han observado en mayor cantidad en los estadios I y II de desarrollo (Méndez *et al.*, 2001).

#### 4.1.5.5. Cantidad de ácidos grasos en gónada

Como se mencionó anteriormente, los resultados de este estudio demostraron que la cantidad total de lípidos con relación a los valores iniciales tuvieron un aumento significativo por efecto de las dietas experimentales del Exp. 1 y 2, mientras que con las dietas del Exp. 3, la cantidad de lípidos se mantuvo sin diferencias significativas. Estas diferencias fueron de igual forma observadas en la cantidad de ácidos grasos (Ag) en los Exp. 1 y 2, mientras que en el Exp. 3 a pesar de no tener diferencias en la cantidad de lípidos en las gónadas, si se observó una disminución significativa en la cantidad de Ag totales. De acuerdo con Cook *et al.* (2000) las diferencias obtenidas en la cantidad de lípidos en las gónadas de los erizos, son el resultado de la alimentación, lo que resulta en diferencias en la acumulación de los distintos ácidos grasos obtenidos de las dietas, es así como de acuerdo a lo que los organismos consuman se pueden obtener cantidades de Ag diferentes que generan gónadas con mejor o peor calidad nutricional. La presencia de Ag en gónadas ha sido observada en muy baja cantidad en otros equinodermos como *Asterias rubens* (Oudejans y Van der Sluis, 1979), sin embargo, se ha indicado que son utilizados para la síntesis de lípidos polares y lípidos que contienen glicerol tanto en las gónadas como durante su movilización y transporte de un tejido a otro (Oudejans y Van der Sluis, 1979).

En el presente estudio, la cantidad de Ag en las gónadas de *S. purpuratus*, presentó cambios en relación a la dieta ofrecida. Por ejemplo, en el Exp. 1 y 2, la fuente de ácidos grasos y las cantidades de lípidos dentro de las dietas eran similares, por lo que las diferencias obtenidas en las cantidades de Ag en las gónadas pueden corresponder a una acumulación selectiva de cada Ag o al cambio en el nivel de proteína y carbohidrato incluido dentro de las dietas. En el Exp. 1, se observó un aumento en la cantidad de Ag totales, conforme disminuía la cantidad de proteína de 30 a 23% y aumentaba la

cantidad de carbohidrato de 42 a 50%. Los organismos que fueron alimentados con la dieta PM-CM (23/50) generaron gónadas con una mayor cantidad de Ag totales (54.9  $\pm$  0.99 mg Ag por g de gónada seca) en comparación con los otros tratamientos. Por el contrario, en el Exp. 2, los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42) no presentó una alta cantidad de Ag como la observada en el Exp. 1, pero la dieta PA-CA (30/50) y las que contenían 23% de proteína generaron las gónadas con la mayor cantidad de Ag en el Exp. 2 (30 mg Ag por g de gónada seca). En el Exp. 3, se observó que la dieta AA-BL (3/2) fue la única que resultó en generar una acumulación significativa de Ag en las gónadas (28.6  $\pm$  0.4 mg Ag por g de gónada seca) con relación a la cantidad de Ag inicial, mientras que los organismos de los otros tratamientos disminuyeron significativamente la cantidad de Ag.

Estudios anteriores reportan que los ácidos grasos saturados (SFAs) 14:0 y 16:0, son los que se encuentran en mayor cantidad en las gónadas de los erizos de mar (George et al., 2008; Gago et al., 2009). Lo anterior fue también observado en los tres experimentos del presente estudio, en donde el ácido palmítico (16:0) fue superior en todos los casos. Resultados similares han sido reportados en otras especies de Strongylocentrotidos como *M. franciscanus, S. intermedius* y *S. droebachiensis* (Fujino et al., 1971; Takagi et al., 1980; Liyana-Pathirana, 2001). El 16:0 es considerado el Ag más aterogénico, por contribuir en mayor proporción a aumentar la cantidad de colesterol en la sangre de los humanos (Gil, 2010), entonces el que las gónadas de los erizos presenten altas cantidades de este ácido graso disminuye la calidad nutricional del producto.

En el presente estudio, cantidades entre 23 y 30% de proteína y 50 y 42% de carbohidratos resultaron en generar aumento de las cantidades de los SFAs, mientras que en el Exp. 3, la cantidad de SFA fue menor en todos los tratamientos en comparación con los experimentos 1 y 2. Únicamente, las dietas que contenían lecitina de soya resultaron en mantener la cantidad de 16:0 con relación al inicial, mientras que con los otros tratamientos la cantidad de este Ag disminuyó significativamente en las gónadas. (Chen *et al.*, 2013), también reporta que la alimentación formulada puede generar incorporaciones de SFA poco comunes en las gónadas de los erizos, dentro de los que se encuentran los ácidos grasos 15:0, 21:0, 23:0, de los cuales el primero fue identificado en el presente estudio. Además, se observó un incremento significativo del ácido behenico (22:0) en aquellos organismos alimentados con lecitina de soya, este Ag también está vinculado con el aumento del colesterol en la sangre de los humanos.

Dentro de los MUFAs que se encontraron en mayor cantidad en el presente estudio fueron el 16:1 y el 18: 1n-9. En el Exp. 1, se encontró que los organismos alimentados con las dietas PMA-CMB (26/46) y PM-CM (23/50) generaron las gónadas con mayores cantidades de MUFAs (5.9  $\pm$  1.09 y

6.03 ± 0.28 mg Ag por g de gónada seca, respectivamente), siendo el MUFA 18:1*n*-9 y 16:1 los cuantificados en mayor cantidad. En el Exp. 2, las dietas PA-CA (30/42), PM-CB (23/42) y PM-CA (23/50), también generaron gran cantidad de estos Ag, además de contener también cantidades considerables del Ag 20:1. Los valores obtenidos de este estudio concuerdan con lo reportado por Chen *et al.* (2013) en *T. gratilla*; además, el Ag 20: 1, se ha encontrado en mayores cantidades en las gónadas del erizo *S. droebachiensis* (Liyana-Pathirana *et al.*, 2002a). Ackman y Hooper (1973) indicaron que en organismos marinos como los moluscos *Littorina littorea*, *Lunata triseriata* y el camarón *Crangon septemspinosus* este Ag se encuentra en cantidades menores del 2% de Ag totales, aunque este ácido graso no fue identificado en las dietas formuladas, es posible que su acumulación en las gónadas de los erizos haya ocurrido por el consumo del alimento, ya que este ácido graso considerado poco común es pobremente metabolizado y es un componente prominente de los aceites de pescado incluyendo el aceite de bacalao, jurel y el arenque (Nettleton, 2012).

En el Exp. 3, la cantidad más alta obtenida de MUFAs se presentó en los organismos alimentados con la dieta BA-SL (0/0) (7.6 mg Ag por g de gónada seca). En este experimento, se observó que las cantidades de MUFAs en las gónadas estaban representadas principalmente por el Ag 14:1; probablemente los organismos acumularon mayor cantidad de este Ag ya que su concentración en las dietas era bastante baja, especialmente en los organismos alimentados con la dieta BA-SL (0/0) los cuales presentaron la mayor acumulación de este Ag comparado con los organismos alimentados con las otras dietas. Por otra parte las cantidades de los Ag 16:1 y 18:1 fueron menores en relación a las obtenidas en los otros experimentos. Una disminución de estos Ag ha sido atribuida a cambios en la gametogénesis en erizos de mar, cuando las gónadas están iniciando un nuevo ciclo gametogénico estas incrementan la cantidad de Ag 14:0, 16:0, 16:1 y el 18:1, como el obtenido en el presente estudio en los organismos del Exp. 1, en donde la mayor parte de individuos se encontraban en estadio I y II (Recuperación y almacenamiento de reservas), y los del Exp. 2 (Marsh y Watts, 2007) que se encontraban en estadios V y I (Desove y recuperación).

En los ecosistemas marinos, se ha indicado que un organismo cambia la composición de los PUFAs en el tejido por factores como la temperatura del agua o el alimento consumido. En invertebrados marinos se ha indicado que a bajas temperaturas hay un aumento de los PUFAs para mantener la fluidez de las membranas celulares (Martínez-Pita et al., 2009). En el presente estudio, las diferencias obtenidas en la cantidad de Ag PUFA pueden ser debidos al alimento consumido, ya que durante cada uno de los experimentos la temperatura del agua se mantuvo constante. En los erizos de mar se ha indicado que las gónadas están constituídas en mayor parte por PUFAs que de SFAs (Liyana-Pathirana et al., 2002a; Liu et al., 2007; Arafa et al., 2012). A pesar de esto, en el presente estudio, en el Exp. 1 y 2, no se observó esta relación; aunque si se notó un aumento significativo de la

cantidad de PUFAs con relación a la cantidad inicial, las cantidades de PUFAs eran inferiores a las cantidades obtenidas de SFAs. Mientras que en el Exp. 3, los organismos que fueron alimentados con las dietas que no contenían inclusión de aceite de pescado, propiciaron la formación de gónadas con mayor contenido de PUFAs que de SFAs, pero las concentraciones de PUFAs se acumularon en mayor cantidad en los organismos alimentados con las dietas que contenían inclusión de lecitina de soya.

En el Exp. 1, la cantidad de PUFAs presentes en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PM-CM (23/50) fueron altas (15.1 ± 0.76 mg Ag por g de gónada seca), superiores a las cantidades obtenidas con los organismos alimentados con las dietas del Exp 2 y 3 (8-12 mg Ag por g de gónada seca). Así mismo, en el Exp. 1, se encontraron cantidades importantes de 18:2*n*-6 (linoleico), 20: 2*n*-6, 20: 5*n*-3 (EPA) y 20: 4*n*-6 (ARA); por su parte en el Exp. 2, se encontró mayor cantidad de 18: 2*n*-6, 20: 2*n*-6, 20: 3*n*-3, EPA y 22: 6*n*-3 (DHA); y en el Exp. 3 de los Ag 18: 2*n*-6 20: 2*n*-6, 18: 3*n*-6 y ARA. Es importante indicar que los erizos alimentados con las dietas del Exp. 1, resultaron en generar gónadas con cantidades similares de omegas 3 y 6, mientras que los alimentados con las dietas del Exp. 2, resultaron en generar gónadas con cantidades importantes de omega 3, y los alimentados con las dietas del Exp. 3 generaron cantidades importantes de omega 6. Wang *et al.* (2013), obtuvieron que en *Cherax quadricarinatus* alimentado con distintas inclusiones de lecitina de soya presentó resultados similares a los obtenidos en el presente estudio con *S. purpuratus*, en donde a medida que aumenta la inclusión de lecitina de soya en las dietas aumentaron las cantidades de linoleico y 18: 3*n*-3 (alfa linoleico), mientras que las cantidades de EPA y DHA disminuyen, ocasionando una menor cantidad de omega 3 y mayor cantidad de omega 6.

El ARA fue observado en menor cantidad en todos los tratamientos del Exp. 2. es probable que la razón de esto sea por que las cantidades de este Ag se encontraron muy bajas en las dietas suministradas. Por su parte, las cantidades de ARA obtenidas en el Exp. 3, aumentaron significativamente por efecto de la lecitina de soya en las dietas, este mismo efecto fue observado en las cantidades de 18: 2*n*-6 y 18: 3*n*-6. Castell *et al.* (2004), encontraron que *S. droebachiensis* a pesar de que es capaz de sintetizar el Ag ARA a partir de la Ag 18: 2*n*-6, no obtuvieron una relación directa entre los niveles de este Ag en la dieta y los de ARA en las gónadas. Por otra parte, Mita *et al.* (1994), Walker *et al.* (2007) y Martínez-Pita *et al.* (2010), indicaron que el Ag EPA, presenta variaciones a lo largo del año y se encuentra en mayor cantidad en las épocas intensas de la gametogénesis, por lo que su disminución puede ser debida a una poca cantidad de gametos dentro de las gónadas. Contrario a esto, en este estudio se encontró que los organismos que se alimentaron con las dietas del Exp. 3, los cuales se encontraban en estadios de desarrollo III y IV presentaron una baja cantidad de este EPA, mientras que los organismos alimentados con las dietas del Exp. 2, que se encontraban en estadios V y I (Desove y recuperación), presentaron cantidades considerables de EPA y DHA.

En los erizos el ARA y el EPA son los que han sido indicados que se encuentran en mayor cantidad (Kennedy et al 2001; Liyana-Pathirana et al., 2002; George et al., 2008; Gago et al., 2009). El DHA también ha sido detectado en las gónadas de S. droebachiensis, pero las cantidades obtenidas son menores, y contribuyen aproximadamente entre el 1 y el 2.5% de la cantidad total de Ag, por lo que las cantidades detectadas DHA en las gónadas de los organismos alimentados con las dietas del Exp. 2 son importantes, con un aumento de más de 2 mg de Ag por g de gónada seca por efecto de la alimentación, esto no fue obtenido con los organismos en el Exp 3, en donde las cantidades de DHA en las dietas suministradas superaban las cantidades de las dietas del Exp.2 en donde se encontró mayor acumulación. Cook et al. (2000), obtuvieron que al alimentar a P. miliaris con macroalga acumulaba menos DHA que cuando se le alimentaba con salmón, pero a pesar de esto sí notaron una acumulación preferencial de ARA y de EPA que de DHA. De igual forma, se ha indicado que a diferencia de todos los demás animales en donde los PUFAs son considerados Ag esenciales (Chapkin, 1992), en los erizos de mar estos no lo son, indicando la actividad de enzimas desaturasas de tipo  $\Delta$  6 y  $\Delta$  5 (Liu et al., 2007; González-Duran et al., 2008), e incluso se ha indicado que debido a las bajas cantidades obtenidas de DHA en las gónadas de erizo, es indicativo de que no tengan ningún requerimiento de este Ag (Castell et al., 2004).

### 4.1.5.6. Cantidad de aminoácidos en gónada

El sabor amargo de las gónadas es uno de los mayores impedimentos de la comercialización de los erizos en el mercado Japonés (Woods *et al.*, 2008). Sin embargo en *S. purpuratus*, no se ha reportado este problema, y por el contrario se ha catalogado el sabor de sus gónadas como dulce y bueno para su comercialización (Cuesta-Gomez y Sánchez-Saavedra, 2014), lo que significa un reto al realizar dietas formuladas para este organismo, puesto que se ha destacado que el uso de dietas formuladas con concentraciones de proteína alta (>25%) afectan el sabor de las gónadas (Lawrence *et al.*, 2001; Murata *et al.*, 2002; Pearce *et al.*, 2002a, 2002b; Robinson *et al.*, 2002; Siikavuopio *et al.*, 2007).

En el presente estudio se encontró que la cantidad de proteína en las dietas influye en el sabor gonadal. Por ejemplo en el Exp. 1, se obtuvo que conforme diminuye la razo de proteína/ carbohidrato el sabor mejora con una correlacion significativa (R= 0.44; P=0.04); en el Exp. 2, se obtuvo una correlación significativa del sabor con el nivel de proteínas en la dieta (R= 0.50; P=0.007) coincidiendo que a mayor cantidad de proteína el sabor de las gónadas es más amargo y de menor de calidad. En el Exp. 3, no se encontró una relación estrecha del nivel de aceite de pescado y lecitina de soya con el sabor gonadal, pero si se obtuvo una correlación significativa (R= 0.51; P=0.028), del aceite de pescado con relación a la cantidad de proteína en gónada, indicando que a mayor cantidad de aceite de pescado la acumulación de proteínas en gónada es mayor.

Las proteínas están compuestas por aminoácidos (AA), de los cuales muchos afectan significativamente el sabor de las gónadas en los erizos (Woods *et al.*, 2008). En los erizos, los AA han sido agrupados de acuerdo a su capacidad de afectar directamente el sabor de las gónadas (Komata *et al.*, 1962; Hirano *et al.*, 1978; Hoshikawa *et al.*, 1998; Woods *et al.*, 2008). Se ha indicado que dentro de los AA que benefician el sabor están los AA típicamente dulces como la glicina, los de sabor umami como el ácido glutámico, o los poco amargos como la arginina, mientras que AA como la valina afectan el sabor significativamente, haciéndolo más amargo y ácido. Por lo que identificar una fuente de AA que se pueda incluir en una dieta formulada y que dé como resultado altos niveles de los AA afecten el sabor positivamente en la gónada de erizo de mar, puede contribuir a un mejor producto al consumidor (Daggett *et al.*, 2006).

La cantidad total de AA de las gónadas de los erizos alimentados con las distintas dietas varió significativamente, en todos los experimentos. En el Exp. 1, se observó un aumento en la cantidad total de AA conforme incrementaba el nivel de proteína en la dieta y disminuía el nivel de carbohidrato. La dieta PB-CA (17/58), generó las gónadas con la menor cantidad de AA totales (258.9 ± 29.8 mg AA por g de gónada seca). En esta dieta, aunque la cantidad de AA dulces y umami fue similar a la de las gónadas al inicio del experimento, la cantidad de AA amargos fue mayor y la calidad de sabor gonadal fue mejor. Tal vez el aumento registrado en el contenido de glicina y la disminución significativa de la tirosina estén generando este cambio entre la muestra inicial y los erizos alimentados con la dieta PB-CA.

En el Exp. 1, la dieta que generó la mayor cantidad de AA totales y el mejor sabor gonadal fue la dieta PMB-CMA (20/54), en donde su mayor diferencia con relación a las otras dietas fue un aumento significativo del glutamato y de la arginina; interesantemente la relación de AA amargos en relación a la cantidad de AA totales fue mayor que en las demás dietas. En el presente estudio se utilizó la agrupación de AA de acuerdo con Woods *et al.* (2008), quienes agruparon a la arginina dentro de la categoría de AA amargos. Kirimura *et al.* (1969), indican que la arginina presenta un sabor amargo acompañado de un ligero sabor dulce, entonces tal vez en *S. purpuratus* este AA este contribuyendo a un mejor sabor gonadal, como lo indicado en otros estudios (Komata *et al.*, 1962; Hirano *et al.*, 1978; Hoshikawa *et al.*, 1998).

En el Exp. 2, se observó que las dietas PA-CA (30/50) y PB-CA (17/50), generaron las gónadas con la mayor cantidad de AA totales. Este aumento, en las gónadas de los organismos alimentados con la dieta PA-CA (30/50) fue principalmente observado por un incremento en la cantidad de AA dulces, principalmente de la cantidad de prolina y por aumento en gran parte de los AA amargos. Mientras que los alimentados con la dieta PB-CA (17/50), presentaron un aumento significativo de los AA

umami. En este experimento, se observó en la evaluación de los criterios de sabor que los organismos alimentados con la dieta PA-CB (30/42), se vieron afectados en el sabor de las gónadas significativamente comparado con el criterio inicial. Por lo que los cambios más notorios en el perfil de AA entre el inicial y las gónadas producidas con la dieta PA-CB fue una disminución importante en la cantidad de glicina y un aumento en la cantidad de tirosina y valina, las cuales se obtuvieron en menor cantidad en las dietas que generaron mejor sabor; esto, aunado a una disminución en las relaciones de AA dulces y umami, y un aumento en la relación de AA amargos con relación a la cantidad de AA totales. Esto también fue observado por Liyana-Pathirana *et al.* (2002b) quienes registraron una disminución en la proporción relativa de glicina, mientras que la tirosina se vuelve dominante en las gónadas de *S. droebachiensis* al ser alimentado con una dieta formulada basada en granos, sin embargo su estudio no evaluó el sabor de las gónadas de los erizos.

En el Exp. 3, se observó una disminución en la cantidad total de aminoácidos por efecto de las dietas suministradas. Únicamente, los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0) mantuvieron la cantidad de AA totales en relación a la muestra de AA inicial (367.7 ± 13.0 mg AA por g de gónada seca), congruente con la mayor cantidad de proteína en gónada. Por su parte, el sabor de las gónadas en el Exp. 3, no presentó diferencias significativas, sin embargo, se observó que la escala de criterios de sabor de las gónadas incrementaba conforme aumentaba la inclusión de lecitina de soya en las dietas que contenían 3% de aceite de pescado. A pesar que no se obtuvo diferencias significativas, la menor escala de sabor de las gónadas fue obtenida con los organismos alimentados con la dieta El dieta AA-SL (3/0), en donde las cantidades de glicina, alanina y aspartato aumentaron considerablemente y los AA como la cisteína, valina, metionina y fenilalanina disminuyeron.

En general, los AA dominantes en las gónadas de *S. purpuratus*, cuando éstas presentaron calidad de sabor "dulce", fueron la glicina, el aspartato, el glutamato, la arginina, la cisteína, la isoleucina y la lisina. La glicina es el aminoácido de mayor dominancia en *P. lividus* (Dincer y Cakli, 2007), *S. droebachiensis* (Lee y Haard, 1982; Liyana-Pathirana *et al.*, 2002b), *Heliocidaris crassispina* (Osako et al., 2006), y *Evechinus chloroticus* (Phillips *et al.*, 2010). La glicina junto con el glutamato han sido vinculados con sabores dulces por Pearce *et al.* (2004) en *S. droebachiensis* y Phillips *et al.* (2009) en *E. chloroticus*. Por su parte, Komata *et al.* (1962); Hoshikawa *et al.* (1998); Fuke y Ueda, (1996) indican que la arginina, lisina y el ácido glutámico están asociados con buen sabor de las gónadas. Mientras que AA como la valina y los AA que contienen grupos sulfuro como la cisteína han sido reportados como promotores de sabores amargos (Pearce *et al.*, 2004; Phillips *et al.*, 2009). Especial atención se debe prestar en las combinaciones entre aminoácidos en las gónadas de los erizos, ya que se ha indicado que existe un cambio característico en el sabor de las gónadas por efecto combinatorio de uno o más de los aminoácidos antes mencionados, dichas combinaciones pueden

potenciar los sabores umami y por ende contribuir a un mejor producto (Fuke y Konosu, 1991; Fuke y Ueda, 1996).

#### 4.1.6 Condición reproductiva

El crecimiento gonadal en los erizos de mar aumenta debido a la intensificación de la gametogénesis, pero también debido al almacenamiento de reservas de energía dentro de los fagocitos nutritivos (FN); estas células somáticas, son las encargadas de almacenar los nutrientes necesarios para dar inicio al proceso gametogénico (Marsh y Watts, 2007; Unuma y Walker, 2009). Se ha reportado que *S. purpuratus* presenta la mayor temporada de desove durante el invierno, en los meses de Enero a Marzo (Gonor, 1973; Kenner y Lares, 1991; Palleiro-Nayar *et al.*, 2010), aunque existen estudios en los que se ha observado liberación de gametos desde Octubre hasta Enero (Basch y Tegner, 2007). Lo que indica que los organismos se encuentran predominantemente en estadios III, IV y V durante estos meses.

En el Exp. 1, no se realizó la valoración histológica de la condición reproductiva de los organismos al inicio del ensayo, pero al finalizar la semana 9 (i.e. finalizando Septiembre de 2014), la mayoría de los erizos se encontraban en estadio I de desarrollo; este resultado también fue obtenido en los organismos que fueron capturados del medio natural en la misma temporada de finalización del ensayo, por lo que se puede inferir que la alimentación no intervino en acelerar el ciclo gametogénico. En *S. purpuratus*, se ha indicado que los ciclos anuales de desarrollo reproductivo son bastante regulares, sin embargo son dependientes de la localidad geográfica, individuos ubicados al sur de California siguen patrones de desarrollo gametogénico más cambiantes que poblaciones de las localidades del norte (Oregón), principalmente modulados por cambios en los factores medio ambientales como la temperatura del agua, el fotoperiodo y la acción de oleaje (Gonor, 1973).

En el Exp. 1, a diferencia de los organismos alimentados con las dietas, los erizos provenientes del medio natural en la semana 9 presentaban IG bajos  $(3.6 \pm 1.7\%)$ , confirmando que altos IG como los obtenidos con la alimentación formulada, no son significado de gónadas en estadios avanzados de desarrollo, ya que los organismos al finalizar el Exp.1 se encontraban mayoritariamente en estadio I y II. En el estadio I, las gónadas están inmaduras, llenas de FN y algunos gametos remanentes del anterior evento de desove; esta etapa puede durar aproximadamente 3 meses dependiendo de la especie (Unuma y Walker, 2009). De acuerdo con Walker *et al.* (2007) y Unuma (2002) la mejor época para consumir la gónada de erizo de mar es justamente antes del inicio de la gametogénesis, (estadios I y II), cuando los FN están llenos de nutrientes, en su mayoría glicógeno. Por lo que si se busca obtener organismos con estas condiciones (i.e. altos IG, estadios I y II), lo más recomendable

es iniciar una alimentación al menos 10 semanas previas al inicio de la gametogénesis, como lo realizado en este experimento.

En el Exp. 2, los individuos al inicio del ensayo (Abril de 2015), se encontraban en su mayoría en estadio IV, congruente con lo indicado por Gonor (1973), Kenner y Lares (1991) y Palleiro-Nayar *et al.* (2010), en donde esta época corresponde a la finalización de la temporada de desove. A la novena semana, se observó que la mayoría de organismos se encontraban en estadios V y I. De acuerdo con Walker *et al.* (2015), los erizos luego de desovar o reabsorber sus gónadas pueden recuperar el peso en un periodo de al menos 45 días; por lo que este resultado puede ser el reflejo del efecto que tienen las dietas ofrecidas en la velocidad de recuperación gonadal de los organismos que pasaron de estadio IV a I e 12 semanas. En la semana 12 (Finalizando Junio de 2015), exceptuando a los organismos alimentados con PB-CA, conforme disminuyó la cantidad de proteína en las dietas se observó una mayor cantidad de individuos en estadio V; especialmente en aquellos organismos alimentados con la dieta PB-CB (17/42); probablemente, aquellos individuos que estaban en estadio de maduración en la semana 9, se evidencian en reabsorción o recuperación al finalizar el ensayo.

En el Exp. 3, los organismos al inicio de experimento (Diciembre de 2015), se encontraban en gran parte en estadio III y al finalizar el experimento aumentó la cantidad de organismos en estadio III y IV, debido a los altos IG de los organismos al finalizar este ensayo, y el estadio reproductivo los organismos, es probable que los organismos estuviesen próximos a un evento reproductivo. Pocos son los estudios que han relacionado la inclusión de lecitina de soya sobre aspectos concernientes a las gónadas de los erizos de mar (González-Duran *et al.*, 2008; Gibbs *et al.*, 2010) y en este experimento no se notaron efectos muy marcados en la condición reproductiva ocasionados por la inclusión de la lecitina de soya en las dietas. González-Duran *et al.* (2008) han indicado que uno de los mayores efectos que puede tener la inclusión de lecitina de soya es que puedan presentar una ventaja para la reproducción, ya sea mediante la mejora en la producción de los huevos o la mejora en su desempeño reproductivo.

En general, la evaluación de los estadios de desarrollo de los organismos no presentó cambios marcados por efecto de las dietas ofrecidas. Los organismos parecieron mantener el ciclo gametogénico en las mismas temporadas que ocurre en el medio natural. Al igual que lo obtenido en el presente estudio, Fernandez (1997) no observó diferencias significativas en los estadios gametogénicos alcanzados al alimentar a *P. lividus* con distintas dietas. Por su parte, Walker y Lesser (1998), lograron conseguir cambios en el ciclo gametogénico de *S. droebachiensis*, pero además de alimentar con dietas formuladas necesitaron manipular el fotoperiodo. Esto podría traer grandes

implicaciones en la acuicultura de estos organismos ya que se podría realizar el ciclo completo de cultivo, tanto para *S. purpuratus*, como para otras especies de erizo amenazadas.

Debido a que durante los periodos de alimentación y/o la limpieza de los tanques en todos los experimentos, se observó una liberación de gametos esporádica en baja cantidad, probablemente a causa del estrés generado por estas actividades cotidianas, y que probablemente hayan tenido consecuencia en los ligeros efectos observados en los estadios gametogénicos. Aunque también cuando los individuos llegan a una etapa avanzada de la gametogénesis (estadio IV) y no se presentan los factores ambientales necesarios para dar lugar a un evento de desove (Boolootian, 1963; Gonor, 1973), los organismos entran en reabsorción de gónada y dan inicio nuevamente al ciclo. Boolootian (1964), indico que *S. purpuratus*, mantenido en cautiverio a temperatura y luz con valores similares a las del medio natural, los organismos se mantienen reproductivamente sincrónicos con las poblaciones naturales.

# **Conclusiones**

Todas las dietas resultaron en aumentar el peso y el índice gonadal en los organismos durante los tres ensayos. Los niveles de inclusión ya sea de proteína, carbohidratos, aceite de pescado o lecitina de soya, no mostraron relación estrecha con el cambio del peso y el índice gonadal. Se observó que las cantidades altas de proteína (i.e. 30%) resultan en generar los mayores índices gonadales, pero también las dietas con altas cantidades de carbohidratos (42 y 50%) pueden generar incrementos significativos del índice gonadal y además contribuir a mejorar el sabor de las gónadas. La tasa de aumento del índice gonadal para épocas menos intensas de la gametogénesis (Exp. 1 y Exp. 2) fue de 0.6% por semana, mientras que en época reproductiva las tasas pueden llegar a ser de hasta 0.9% por semana y se pueden obtener los índices gonadales más altos (20%).

Independiente de la inclusión de macronutrientes en el alimento ofrecido, los organismos consumieron entre 0.4 y 0.5 g de alimento seco diario, se puede descartar que los organismos consuman a saciedad de un nutriente en específico y tal vez detengan su alimentación a saciedad del volumen de alimento consumido, o a saciedad de una cantidad requerida de energía. La razón de proteína/ carbohidrato, la inclusión de proteína y la inclusión de aceite de pescado estuvieron estrechamente relacionadas con las tasas de conversión del alimento a gónada, por lo que a mayor razón e inclusión de los nutrientes antes descritos se obtuvieron menores tasas. A mayor razón de proteína/ carbohidrato y mayor inclusión de proteína, el coeficiente de digestibilidad aparente, el coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína y la tasa de eficiencia proteica disminuyen, indicando mayor digestibilidad de los carbohidratos. Mientras que a mayor inclusión de aceite de pescado el coeficiente de digestibilidad y la TEPG se ven favorecidas.

Los organismos alimentados con la dieta PB-CA (17/58), mejoraron su calidad gonadal en términos de luminosidad, croma y color subjetivo. Mientras que el matiz, la textura y la firmeza fueron mejores con la dieta PA-CB (30/42), al realizar la sumatoria de las variables y encontrar la mejor combinación de la calidad junto con el índice gonadal, se obtuvo que la dieta PM-CM (23/50), era la que mejor funcionaba para cumplir los objetivos del Exp. 1, que era evaluar el uso de estos macronutrientes para obtener los niveles de proteína y carbohidrato que permitirán obtener el efecto combinado de aumento del IG y mejoramiento de la calidad gonadal. Por lo que, se decidió tomar los tres niveles de proteína y combinarlos con dos niveles de carbohidratos, con el fin de observar si los carbohidratos intervenían en la calidad.

En el Exp. 2, las dietas con nivel de proteína del 30%, continuaron generando sabores de las gónadas amargos; mientras que los organismos alimentados con niveles de proteína por debajo del 23%,

resultaron en generar la mejor calidad gonadal. La dieta, PM-CA (23/50) obtuvo un incremento en IG considerable y además la mejor luminosidad croma, color subjetivo, firmeza y sabor, por esto fue seleccionada para el Exp. 3.

En el Exp. 3, la adición tanto de aceite de pescado como de lecitina de soya contribuyó a aumentar el peso e índice gonadal, más que con las dietas que no presentaban inclusión de estos componentes, siendo las dieta AA-SL (3/0) y AA-BL (3/2), las que generaron el mayor índice gonadal y peso gonadal, respectivamente. Ninguna de las variables de calidad gonadal fue estrechamente afectada por la inclusión de aceite de pescado o lecitina de soya. Sin embargo, se observó que la inclusión de lecitina de soya genera gónadas con mayor luminosidad, a pesar de esto, la dieta que generó el mayor puntaje de calidad gonadal fue la dieta AA-SL, debido a que las gónadas presentaron mejor croma, color subjetivo, textura y sabor.

La composición del tejido gonadal presentó cambios significativos por efecto de la composición de las dietas ofrecidas. Los mayores componentes encontrados en las gónadas de los erizos fueron principalmente proteína y ELN. En el Exp. 1 a menor razón de proteína/carbohidrato mayor cantidad de proteína en gónada y los lípidos fueron más altos cuando se ofreció mayor razón de proteína/carbohidrato. En el Exp. 2 a mayor cantidad de proteína en dieta menor cantidad de lípidos en gónadas, este resultado inverso pudo haber sido principalmente ocasionado por la diferencia en el ciclo gametogénico. En el Exp. 3 la lecitina de soya no presentó un efecto en la composición proximal de las gónadas, mientras que a mayor adición de aceite de pescado mayor cantidad de proteínas en gónada.

Cantidades entre 23 y 30% de proteína y 50 y 42% de carbohidratos en dieta favorecieron en generar aumento de los ácidos grasos saturados en las gónadas, los SFAs que se encontraron en mayor cantidad en todas las muestras de gónada fueron el 14:0 y el 16:0. Una acumulación de ácidos grasos aterogénicos disminuye la calidad nutricional del producto. Mientras que una acumulación de ácidos grasos poliinsaturados podría aumentar su valor comercial. En el presente estudio, los PUFAs presentaron valores altos en los organismos alimentados con la dieta PM-CM (23/50) con cantidades importantes de 18: 2*n*-6, 20: 2*n*-6, 20: 5*n*-3 (EPA) y 20: 4*n*-6 (ARA); en el Exp. 2, los organismos alimentados con la dieta PM-CB (23/42) se destacaron por presentar altas cantidades de omegas 3 y en específico altas cantidades de 22: 6*n*-3 (DHA); mientras que en el Exp. 3 conforme aumentó la inclusión de lecitina de soya en las dietas, aumentaron las cantidades de 18: 2*n*-6, y 18: 3*n*-3, mientras que el EPA y DHA disminuyeron, ocasionando una menor cantidad de omega 3 y mayor cantidad de omega 6 en las gónadas. Es probable que la composición de Ag esté vinculada además de la alimentación al estadio del ciclo reproductivo en el que se encuentren los organismos, en el

presente estudio en el EXP. 2. fue en donde se obtuvo una mayor cantidad de PUFAs, sin embargo es necesario un estudio detallado de la cantidad de Ag en cada estadio del ciclo gametogénico para establecer en cual se puede obtener una mayor concentración de PUFAs y por ende una mejor calidad nutricional de las gónadas.

La cantidad total de aminoácidos de las gónadas varió significativamente, en todos los experimentos. En general, los aminoácidos dominantes en las gónadas de *S. purpuratus*, cuando presentaron calidad de sabor "muy dulce" o "dulce", fueron la glicina, el aspartato, el glutamato, la arginina, la cisteína, la isoleucina y la lisina. El aumento de la cantidad de AA en el Exp. 1 ocurrió conforme aumentaba el nivel de proteína en dieta, mientras que en el Exp. 2 ocurrió lo contrario y la dieta PB-CA (17/50), generó las gónadas con la mayor cantidad de aminoácidos totales. En el Exp. 3, se observó una disminución en la cantidad total de aminoácidos y el sabor empeoró con la adición de la lecitina de soya. El mejor sabor gonadal fue obtenido en los organismos alimentados con la dieta AA-SL (3/0), en donde las cantidades de glicina, alanina y aspartato aumentaron considerablemente y los aminoácidos como la cisteína, valina, metionina y fenilalanina disminuyeron.

Bajo las condiciones utilizadas en el presente estudio, en el erizo *S. purpuratus* adulto, conforme incrementa la razón de proteína/ carbohidrato en la dieta no hay un cambio significativo en el IG, pero cuando la razón aumenta, la calidad gonadal disminuye. Por su parte, cuando los erizos son alimentados con cantidad alta de carbohidratos (50%), generan gónadas con excelente calidad. Una dieta que contiene 23% de proteína y 50% de carbohidratos genera en *S. purpuratus* una combinación favorable para obtener tanto aumento del IG como mejora en la calidad de las gónadas. Por su parte, la adición de aceite de pescado y/o lecitina de soya no influyen significativamente en el aumento del IG, las inclusiones de lecitina de soya no presentaron relación estrecha con el IG, pero favoreció en generar gónadas con coloraciones más cercanas a las cartas de color estándar, disminuir la tasa de conversión del alimento y aumentar la tasa de eficiencia proteica; entonces si se desea utilizar este ingrediente en las dietas, las inclusiones utilizadas en este estudio son apropiadas.

# Recomendaciones

Es importante un periodo de aclimatación de los organismos de al menos 5 semanas para poder eliminar la mortalidad debida al estrés de la colecta de los organismos del medio natural, el traslado y el acondicionamiento para tener mejor control de la supervivencia.

Con el fin de realizar las optimizaciones de una dieta formulada para *S. purpuratus*, se recomienda formular las dietas con base en los niveles de inclusión de macronutrientes propuestos en el presente estudio, pero buscando ingredientes que no sean de origen marino y más económicos.

Se recomienda realizar optimizaciones de las dietas con base en los niveles de inclusión de macronutrientes propuestos para en el presente estudio, con la finalidad de pasar de una dieta semihúmeda a piensos secos para mayor tiempo de anaquel de las dietas.

Debido a que el β-caroteno, en el presente estudio resultó ser un pigmento favorable en generar buenas coloraciones de las gónadas, se recomienda profundizar en su estudio, mediante la realización de evaluaciones con distintos niveles de inclusión.

Ya que en *S. purpuratus*, los pigmentos gonadales no han sido estudiados, se recomienda estudiar su metabolismo dentro del organismo y realizar perfiles de pigmentos mediante HPLC.

Se recomienda, establecer protocolos de alimentación dependiendo de la época del año en la cual se desea realizar la engorda de los organismos, con la finalidad de obtener el mejor incremento gonadal con la mejor calidad.

Se recomienda realizar un estudio de factibilidad económica de la tecnología de engorda de las gónadas de erizo morado en condiciones de cultivo controladas en el estado de Baja California, con un adecuado programa de las capturas con el fin de promover su engorda y el control de las poblaciones naturales.

# Literatura citada

- Ackman, R. G., Hooper, S. N. 1973. Non methylene interrupted fatty acids in lipids of shallow water marine invertebrates: a comparison of two molluscs (*Littorina littorea* and *Lunatia triseriata*) with the sand shrimp (*Crangon septemspinosus*). Comparative Biochemistry and Physiology, 46, (1), 153–165.
- Agatsuma, Y. 1998. Aquaculture of the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) transplanted from coralline flats in Hokkaido, Japan. Journal of Shellfish Research, 17, 1541–1547.
- Agatsuma, Y. 2000. Food consumption and growth of the juvenile sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. Fisheries Science, 66, 467–472.
- Agatsuma, Y., Sato, M., Taniguchi, K. 2005. Factors causing Brown-colored gonads of the sea urchin *Strongylocentrotus nudus* in northern Honoshu, Japan. Aquaculture, 249, 449–458.
- Agatsuma, Y., Sakai, Y., Tajima, K. 2010. Recent advances in Sea Urchin aquaculture in Japan. En: Waddy, S., 2010. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada. 108-1.
- Akiyama, T., Unuma, T., Yamamota, T. 2001. Optimum protein level in a purified diet for young red sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. Fisheries Science, 67, 361–363.
- Andrew, N. L., Agatsuma, Y., Ballesteros, E., Bazhin, A. G., Creaser, E. P., Barnes, D. K. A., Botsford, I. W., Bradbury, A., Campbell, A., Dixon, J. D., Einarsson, S., Gerring, P. K., Hebert, K., Hunter, M., Hur, S. B., Johnson, C. R., Juinio-Meñez, M. A., Kalvass, P., Miller, R. J., Moreno, C. A., Palleiro, J. S., Rivas, D., Robinson, S. M. L., Schroeter, S. C., Steneck, R. S., Vadas, R. L., Woodby, D. A., Xiaoqi, Z. 2002. Status and management of world sea urchin fisheries. Oceanography and Marine Biology: an Annual Review, 40, 343-425.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis.15th Ed. Virginia, VA. Association of Official Analytical Chemists. pp. 1200.
- Arafa, S., Chouaibi, M., Sadok, S., Abed, A. 2012. The Influence of Season on the Gonad Index and Biochemical Composition of the Sea Urchin *Paracentrotus lividus* from Golf of Tunis. The Scientific World Journal. Vol 2012, Article ID 815935, 8pp. doi:10.1100/2012/815935
- Ásbjörnsson, H. P. 2011. Management and utilization of green sea urchin *Strongylocentrotus* droebachiensis in Eyjafjörður, Northern Iceland. School of Business and Science Faculty of Natural Resource Science. Tesis de Maestría. University of Akureyri. Iceland. 115 pp.
- Azad, A. K. 2011. Factors Influencing adult gonad production and larval growth and survival of the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). Tesis de Doctorado. The University of British Columbia. Vancouver, Canada. 182 pp.

- Azad, A. K., Pearce, C. M., McKinley, R. S. 2011. Effects of diet and temperature on ingestion, absorption, assimilation, gonad yield, and gonad quality of the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). Aquaculture, 317, 187-196.
- Basch, L. V., Tegner, M. J. 2007. Reproductive responses of purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) populations to environmental conditions across a coastal depth gradient. Bulletin of Marine Sciences, 81,255–282.
- Barker, M. F., Keogh, J. A., Lawrence J. M., Lawrence, A. L. 1998. Feeding rate, absorption efficiencies, growth and enhancement of gonad production in the New Zeland sea urchin *Evechinus Chloroticus* valenciennes (Echinoidea: Echinometridae) fed prepared and natural diets. Journal of Shellfish Research, 17 (5), 1583-1590.
- Barnes, R. 1968. Invertebrate zoology Second Edition. W. B. Saunders Company, pp 743.
- Bautista-Teruel, M. N., Millamena, O. M., 1999. Diet development and evaluation for juvenile abalone, *Haliotis asinina*: protein/energy levels. Aquaculture, 178, 117–126.
- Beas-Luna, R. 2005. Dinámica poblacional del erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus* en el borde entre un manto de sargazo y un desierto de erizos en la península de Baja California, México. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California, México. pp 77.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2007. Biochemetry, Sixth Edition. Editorial Reverté, S. A. España. pp 979.
- Blount, C., Worthington, D. 2002. Identifying individuals of the sea urchin *Centrostephanus rodgersii* with high-quality roe in New South Wales, Australia. Fisheries Research, 58(3), 341–348.
- Boolootian, R. A., 1964. Die Bedeutung abiotischer Faktoren fur die Gonadenentwicklung und Fortpflanzung mariner Evertebraten. Helgola¤nder wiss. Meeresuntersuch. 10, 118-139. En: Cochran, R. C., Engelmann, F. 1975. Environmental regulation of the annual reproductive season of *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). Biological Bulletin, 148 (3), 393-401.
- Boolootian, R. A., Lasker, R. 1964. Digestion of brown algae and the distribution of nutrients in the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 11(3), 273-289.
- Borisovets, E. E., Zadorozhny, P. A., Kalinina, M. V., Lepskaya, N. V., Yakush, E. V. 2002. Changes of major carotenoids in gonads of sea urchins (*Strongylocentrotus intermedius* and *S. nudus*) at maturation. Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry & Molecular Biology, 132, 779–790.
- Bureau, D., Campbell, A., Hartwick, E. B. 1997. Roe enhancement in the red sea urchin, Strongylocentrotus franciscanus, fed the bull kelp Nereocystis luetkana. Bulletin Aquaculture Association of Canada, 97, 26–30.

- Castell, J. D., Kennedy, E. J., Robinson, S. M. C., Parsons, G. J., Blair, T. J. Gonzalez-Duran, E., 2004. Effect of dietary lipids on fatty acid composition and metabolism in juvenile green sea urchins (Strongylocentrotus droebachiensis). Aquaculture, 242, 417–435.
- Chang, Y. Q., Lawrence, J. M., Cao, X. B. 2005. Food consumption, absorption, assimilation and growth of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* fed a prepared feed and the alga *Laminaria japonica*. Journal of the World Aquaculture Society, 36, 68–75.
- Chapkin, R.S. 1992. Reappraisal of the essential fatty acids. En: Chow, C.K. (Ed.). Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. Marcel Dekker, New York, NY, pp 429–436.
- Chen, Q. 2005. Identification of the pigments, fatty acids and glycogen present in the gonads of cultured sea urchins (*Evechinus chloroticus*). Tesis de Maestría. The University of Auckland, New Zealand.
- Chen, Y. C., Chen, T. Y., Chiou, T. K., Hwang, D. F. 2013. Seasonal variation on general composition, free amino acids and fatty acids in the gonad of Taiwan's sea urchin *Tripneustes gratilla*. Journal of Marine Science and Technology, 21 (6), 723-732. DOI: 10.6119/JMST-013-0429-1
- Cochran, R. C., Engelmann, F. 1975. Environmental regulation of the annual reproductive season of *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). Biological Bulletin, 148 (3), 393-401.
- Cook, E. J., Kelly, M. S., McKenzie, J. D., 1998. Somatic and gonadal growth of the sea urchin *Psammechinus miliaris* (Gmelin) fed artificial salmon feed compared with a macroalgal diet. Journal of Shellfish Research, 117, 1549-1555.
- Cook, E. J., Bell, M. V., Black, K. D., Kelly, M. S. 2000. Fatty acid compositions of gonadal material and diets of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*: trophic and nutrittional implications. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 255, 261-274.
- Cook, E. J., Kelly, M. S., 2007. Effect of variation in the protein value of the red macroalga *Palmaria* palmata on the feeding, growth and gonad composition of the sea urchins *Psammechinus* miliaris and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). Aquaculture, 270, 207-217.
- Cook, E. J., Kelly, M. S. 2009. Co-Culture of the sea urchin *Paracentrotus lividus* and the edible mussel *Mytilus edulis* L. on the west coast of Scotland, United Kingdom. Journal of Shellfish Research, 28 (3), 553-559.
- Cuesta-Gómez, D. M. 2012. Crecimiento e incremento gonadal del erizo morado *Strongylocentrotus* purpuratus alimentado con *Macrocystis pyrifera* y *Ulva lactuca* enriquecidas con nutrientes. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California, México. pp 128.
- Cuesta-Gomez D. M., Sánchez-Saavedra M. P. 2014. Increased gonad growth of the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) fed the giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) and the sea lettuce (*Ulva lactuca*) enriched with nutrients. Aquaculture Research, doi:10.1111/are.12669. [Epub ahead of print].

- Daggett, T. L., C. M. Pearce, M. Tingley, S. M. C. Robinson., Chopin, T. 2005. Effect of prepared and macroalgal diets and seed stock source on somatic growth of juvenile green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture, 244, 263–281.
- Daggett, T.L., Pearce, C. M., Robinson, S. M. C. 2006. A comparison of three land-based containment systems for use in culturing green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis* (Muller) (Echinodermata: Echinoidea). Aquaculture Research, 37, 339–350.
- Dale, T., Siikavuopio, S., Carlehög, M., 2003. Effects of different diets on sensory quality of gonads. En: Lawrence, M., Guzman, O. (eds.) Sea urchin fisheries and ecology. DESTec Publications Inc., Lancaster, USA. pp 242–243.
- Dale, T., Siikavuopio, S. I., Aksnes, A., Hope, B., Gebauer, R., Carlehög, M., 2006. Smak og tekstur på Kråkebollegonader. Forholdet mellom biokjemisk sammensetning og produktkvalitet. Rapport fra Fiskeriforskning. 4/2006. pp 47.
- de Jong-Westman, M. 1975. The effects of artificial diet on gonad size, egg size, egg quality and larval vitality in green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis*, of aquaculture significance. Tesis de Maestría. The University of British Columbia. Canada. pp 82.
- de Jong-Westman, M., March, B. E., Carefoot, T. H. 1995. The effect of different nutrient formulations in artificial diets on gonad growth in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Canadian Journal of Zoology. 73, 1495-1502.
- Dincer, T., Cakli, S. 2007. Chemical composition and biometrical measurements of the Turkish sea urchin (*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816). Critical Reviews in Food Science and Nutrition 27, 21–26.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). (2012). Actualización de la carta nacional pesquera (Erizo de Baja California) México. Consultado el 25 Marzo de 2013, de www.dof.gob.mx.
- Duggins, D. 1983. Starfish predation and the creation of mosaic patterns in a kelp-dominated community. Ecology, 64, 1610-1619.
- Durazo-Beltrán, E., D'Abramo, L. R., Toro-Vazquez, J. F., Vasquez-Peláez, C., Viana, M. T. 2003. Effect of triacylglycerols in formulated diets on growth and faty acid composition in tissue of Green abalone (*Haliotis fulgens*). Aquaculture, 224, 257-270.
- Ebert, T. A. 1968. Growth rates of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* related to food availability and spine abrasion. Ecology, 49, 1075-1092.
- Ebert, T. A. 2001. Growth and survival of post-settlement sea urchins. En: Lawrence, J. M. (ed.). Edible sea urchins: biology and ecology. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, pp 79–102.
- Eddy, S., Brown, N. P., King, A. L., Watts, S. A., Lawrence, A. 2012. Growth of juvenile green sea urchin Strongylocentrotus droebachiensis, fed formulated with varying protein levels compared with

- a macroalgal diet and a commercial abalone fed. Journal of the world Aquaculture Society, 43 (2), 159-173.
- Ellington, W. R. 1982. Intermediary metabolism. En: Jangoux, M., Lawrence, J. M. (eds), Echinoderm Nutrition. Balkema, Rotterdam. pp 395-415.
- Fabbrocini, A., Volpe, M. G., Di Stsio, M., D´Adamo, R., Maurizio, D., Coccia, E., Paolucci, M., 2012. Agar-based pellets as feed for sea urchins (*Paracentrotus lividus*): rheological behavior, digestive enzymes and gonad growth. Aquaculture Research, 43, 321-331.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome. Retrieved from <a href="http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf">http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf</a>
- Farmanfarmaian, A., Phillips, J. H. 1962. Digestion, storage, and translocation of nutrients in the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). Biological Bulletin, 123, 105-120.
- Fenucci, J. L., Harán, N. S. 2007. Fosfolipidos y colesterol. En: García-Galano, T., Villarreal, H., Fenucci, J (Eds.). Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos. EUDEM, Argentina, 264 pp. ISBN: 978-987-1371-02-
- Fernandez, C., 1997. Effect of diet on the biochemical composition of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata; Echinoidea) under natural and rearing conditions (effect of diet on biochemical composition of urchins). Comparative Biochemistry and Physiology, 118 (A), 1377-1384.
- Fernandez, C., Pergent, G., 1998. Effect of diet and rearing condition on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Journal of Shellfish Research, 17(5), 1571–1581.
- Fernandez, C., Boudouresque, C. F., 2000. Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different artificial food. Marine Ecology Progress Series, 204, 131–141.
- Fleming, A. E., Barnveld, R. J. V., Hone, P. W., 1996. The development of artificial diets for abalone: a review and future directions. Aquaculture, 40, 5–53.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal Biology and Chemistry, 226, 497-509.
- Fonseca-Madrigal, J. 2001. Efecto de seis dietas microalgales en el desarrollo larvario, metamorfosis y obtención de juveniles del erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Ensenada, Baja California. pp 83.
- Fujino. Y., Negishi, T., Umatni, K. 1970. Studies on lipids in the sea urchin egg. Part I. On the chemical changes of lipids during curing with salt. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaisgi, 17, 343-349.

- Fuke, S. Ueda, Y. 1996. Interactions between umami and other flavor characteristics. Trend in Food Science and Technology, 7, 407-411.
- Fuke, S., Konosu, S. 1991. Taste-active components in some foods: A review of Japanese research. Physiology & Behavior. 49,863-868
- Gago, J. M., Luis, O. J., Repolho, T. R. 2009. Fatty acid nutritional quality of sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816) eggs and endotrophic larvae: Relevance for feeding of marine larval fish. Aquaculture Nutrition, 15, 379-389.
- García-Chávez, J. H. 2012. Efecto de la temperatura sobre la síntesis y acumulación de ácidos grasos en juveniles de erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus* y erizo negro *Arbacia incisa*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Ensenada, Baja California. pp 78.
- Gatlin, D. M. 2002. Fish Nutrition (Chapter 12) Nutrition and fish health. En: Halver, J. E., Hardy, R. (eds.). Fish Nutrition (Third Edition). Elsevier Science (USA). pp 671-702.
- George, S. B., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L. Ford, J. 2000. Fertilization and development of eggs of the sea urchin *Lytechinus variegatus* maintained on an extruded feed. Journal of the World Aquaculture Society, 31, 232–238.
- George, S. B., Fox, C., Wakeham, S. 2008. Fatty acid composition of larvae of the sand dollar Dendraster excentricus (Echinodermata) might reflect FA composition of the diets. Aquaculture, 285, 167-173.
- Gibbs, V. K. 2005. The effect of temperature on the development and biochemical composition of the gonads in the regular sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). Tesis de Maestría. The University of Alabama at Birmingham. Birmingham, AL. USA.
- Gibbs, V. K., Powell, M. L., Hammer, H. S., Jones, W. T., Watts, S. A., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., 2010. Effects of dietary phospholipids and cholesterol on growth and organ production in the sea urchin, *Lytechinus variegatus*. En: Harris, L. G., Boettger, S. A., Walker, C. W., Lesser, M. P. (eds.). Proceedings of the 12th International Echinoderm Conference, Durham, New Hampshire. CRC Press/Balkema, pp 369–375.
- Gibbs, V. K., 2011. An evaluation of dietary lipids on growth performance in the sea urchin, *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). Tesis de Doctorado. The University of Alabama at Birmingham. USA. pp 223.
- Gibbs, V. K., Heflin, L. E., Jones, W. T., Powell, M. L., Lawrence, A. L., Makowsky, R., Watts, S. 2011. Effect of menhaden and soils on juvenile growth in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Book of Abstracts, World Aquaculture Society Annual Conference. New Orleans, Louisiana, USA. pp 182.
- Gibbs, V. K, Powell, M. K., Hammer, H. S., Jones, W. T., Watts, S. A., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., 2013. Evaluation of the effects of menhaden oil and soybean oil levels in purified diets on

- growth and gonad production in adult sea urchin *Lytechinus variegatus*. North American Journal of Aquaculture, 75, 277–284.
- Giese, A. C. 1967. Changes in body component indexes and respiration with size in the purple sea Urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Physiological Zoology, 40, 194-200.
- Gil, A. 2010. Tratado de nutrición:Tomo III, Nutrición humana en el estado de salud. Segunda Edición. Editorial Medica Panamericana, S. A. España. pp 576.
- Gonor, J. 1973. Reproductive cycles in Oregon populations of the echinoid, *Strongylocentortus* purpuratus (Stimpson). Annual gonad growth and ovarian gametogenetic cycles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 12, 45–64.
- González-Durán, E., Castell, J. D., Robinson, S. M. C., Blair, J. T. 2008. Effect of dietary lipids on the fatty acid composition and lipid metabolism of the green sea urchins Strongylocentrotus droebachiensis. Aquaculture, 276, 120-129.
- Green, P. J. 2002. Colorimetry and colour difference. En: Green, P. J, MacDonald, L. W (eds.). Colour engineering: achieving device independent colour. John Wiley Sons Ltd, New York, USA, pp 49–78.
- Greenfield, L., Giese, A. C., Farmanfarmaian, A., Boolootian, R. A., 1958. Cyclic biochemical changes in several echinoderms. Journal of Experimental Zoology. 139, 507-524.
- Grosjean, P., Spirlet, C., Gosselin, P., Vaitilingon, D. Jangoux, M. 1998. Land-based closed cycle echiniculture of *Paracentrotus lividus* Lamarck (Echinodermata: Echinoidea): a long term experiment at a pilot scale. Journal of Shellfish Research. 17, 1523-1531.
- Griffiths, M., Perrott, P. 1976. Seasonal changes in the carotenoids of the sea urchin Strongylocentrotus droebachiensis. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 55, 435–441.
- Grupe, B., 2006. Purple sea urchins (*Strongylocentrotus purpuratus*) in and out of pits: The effects of microhabitat on population structure, morphology, growth and mortality. Tesis de Maestría. Grad School University of Oregón. pp 278.
- Guidetti, P., Fraschetti, S., Terlizzi, A., Boero, F., 2003. Distribution patterns of sea urchins and barrens in shallow Mediterranean rocky reefs impacted by the illegal fishery of the rockboring mollusc *Lithophaga lithophaga*. Marine Biology, 143, 1135-1142.
- Hammer, B. W., Hammer, H. S., Watts, S. A., Desmond, R. A., Lawrence, J. M., A. L. Lawrence. 2004. The effects of dietary protein concentration on feeding and growth of small *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). Marine Biology, 145 (6), 1143-1157.
- Hammer, H., 2006. Determination of dietary protein, carbohydrate, and lipid requirements for the sea urchin *Lytechinus variegatus* fed semi-purified feeds. Tesis de Doctorado. The University of Alabama at Birmingham. pp 188.

- Hammer, H., Hammer, B., Watts, S., Lawrence, A. L. Lawrence, J. M. 2006a. The effect of dietary protein and carbohydrate concentration on the biochemical composition and gametogenic condition of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 334, 109–121.
- Hammer, H., Watts, S. A., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., Desmond, R. 2006b. The effect of dietary protein on consumption, survival, growth and production of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Aquaculture, 254, 483–495.
- Hammer, H., Powell, M. L., Gibbs, V. K., Jones, W. T., Watts, S. A., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., L.
  R. D'Abramo. 2010. Effect of dietary menhaden oil and soil oil on consumption, somatic growth and gonad production of the sea urchin, *Lytechinus variegatus*. En: Harris, L. G., Bottger, S. A., Walker, C. W., Lesser, M. P. (eds.). Proceedings of the International Echinoderm Conference. Durham, New Hampshire, USA. pp 377-383.
- Hammer, H., Powell, M. L., Jones, W. T., Gibbs, V. K., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., Watts, S. A. 2012. Effect of feed protein and carbohydrate levels on feed intake, growth, and gonad production of the sea urchin, *Lytechinus variegatus*. Journal of the World Aquaculture Society, 43 (2), 145-158.
- Hávardsson, B., Imsland, A. K., Christiansen, R. 1999. The effect of astaxanthin in feed and environmental temperature on carotenoid in the gonads of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* Muller. Journal of the World Aquaculture Society, 30, 208–218.
- Hayes, M., Heflin, L. E., Lawrence, J. M., Watts, S. A. 2016. Feed intake and satiety in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Book of Abstracts, Aquaculture America 2016. Las Vegas, NV, USA. pp 349.
- Heflin, L. E., Raubenheimer, D., Simpson, S. J. Watts, S. A. 2016. Balancing macronutrient intake in cultured *Lytechinus variegatus*. Aquaculture, 450, 295-300.
- Heflin, L. E. 2010. Effect of dietary protein and carbohydrate levels on weight gain and organ production in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Tesis de Maestría. The University of Alabama at Birmingham. pp. 138.
- Heflin, L. E., Gibbs, V. K., Powell, M. L., Makowsky, R., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., Watts, S. A. 2012. Effect of dietary protein and carbohydrate level on weight gain and gonad production in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Aquaculture, 358-359, 253-261.
- Hernández-Carmona, G., Robledo, D., Serviere-Zaragoza, E. 2001. Effect of nutrient availability on Macrocystis pyrifera recruitment and survival near its southern limit of Baja California. Botánica Marina, 44, 221-229.
- Hirano, T. Yamazawa, S., Suyama, M. 1978. Chemical composition of gonad extracts o sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish, 44, 1037-1040.

- Hoshikawa, H., Takahashi, K., Sigimoto, T., Tuji, K., Nobuta, S. 1998. The effects of fishmeal feeding on the gonad quality of cultivated sea urchins *Strongylocentrotus nudus* (A. Agassiz). Scientific Reports of Hokkaido Fisheries Experimental Station, 52, 17-24.
- Hwang, D. 1992. Dietary fatty acids and eicosanoids. En: Chow, C. K. (ed.), Fatty acids in foods and their health implications. Marcel Dekker, Inc., New York, New York, USA. pp 545–558.
- Ibrahim, M. L., Ijah, U. J. J., Manga, S. B., Bilbis, L. S., Umar, S. 2013. Production and partial characterization of bio surfactant produced by crude oil degrading bacteria. International Biodeterioration & Biodegradation, 81, 28-34.
- Jaeckle, W. B. 1995. Variation in the size, energy content and biochemical composition of invertebrate eggs: correlates to the mode of larval development. En: Mc Edward, L. R. (ed.), Marine Invertebrate Larvae, CRC Presss, New York, NY, pp 49-78.
- James, P., Woods, C., Illingworth, J. 2004. The effect of diet on gonad enhancement of wild *Evechinus chloroticus*. En: Lawrence, J. M, Guzman O (eds.). Sea urchin fisheries and ecology. DESTec Publications Inc., Lancaster, USA, pp 265–273.
- Jones, W. T., Watts, S. A., Gibbs, V., Hammer, H., Powell, M., Lawrence, J. M., Lawrence, A. 2005. Selenium toxicity in the regular sea urchin *Lytechinus variegatus*. Abstract. Journal of the Alabama Academy of Science, 76 (2), 106.
- Jones, W. T., Powell, M. L., Gibbs, V. K., Hammer, H. S., Watts, S. A., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., 2010a. Evaluation of the effect of dietary zinc, iron, and manganese supplementation on growth and survival of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. En: Harris, L. G., Bottger, S. A., Walker, C. W., Lesser, M. P. (eds.). Proceedings of the International Echinoderm Conference. Durham, New Hampshire, USA. pp 385-390.
- Jones, W. T., Powell, M. L., Gibbs, V. K., Hammer, H. S., Watts, S. A., 2010b. The effect of dietary selenium on weight gain and gonad production in the sea urchin, *Lytechinus variegatus*. Journal of the World Aquaculture Society, 41 (5), 675-686.
- Jones, W. T. 2011. The effects of supplemental dietary vitamins on weight gain and organ production in the variegated sea urchin, *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: echinoidea). Tesis de Doctorado. University of Alabama at Birmingham. pp 200.
- Kato, S., Schroeter, S. C. 1985. Biology of the Red Sea Urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*, and its fishery in California. Marine Fisheries Review, 47, 1-20.
- Kawakami, T., Tsushima, M., Katabami, Y., Mine, M., Ishida, A., Matsuno, T. 1998. Effect of β-carotene, β-echinenone, astaxanthin, fucoxanthin, vitamin A and vitamin E on the biological defense of the sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 226, 165-174.

- Keesing, J. K., Hall, K. C. 1998. Review of harvest and status of world sea urchin fisheries points to opportunities for aquaculture. Journal of Shellfish Research, 17 (5), 1597-1604.
- Kennedy, E.J., Robinson, S.M.C., Parson, G.J., Castell, J.D. 2001. Studies on feed formulation to maximize somatic growth rates of juvenile green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). En: Hendry, C.I., McGladdery, S.E. (eds.). Aquaculture Association of Canada Special Publication, No.4, pp. 68–71.
- Kennedy, E. J., Robinson, S. M. C., Parsons, G. J., Castell, J. D. 2005. Effect of protein source and concentration on somatic growth of juvenile green sea urchins *Strongylocentrotus droebachiensis*. Journal of the World Aquaculture Society, 36, 320-336.
- Kennedy, E. J., Robinson, S. M. C., Parsons, G. J., Castell, J. D., 2007. Effect of lipid source and concentration on somatic growth of juvenile green sea urchins, *Strongylocentrotus* droebachiensis. Journal of the World Aquaculture Society, 38, 335-352.
- Kenner, M. C., Lares, M. T., 1991. Size at first reproduction of the sea urchin *Strongylocentrotus* purpuratus in a central California kelp forest. Marine Ecology Progress Series, 76, 303-306.
- Kim-Abreu, E. T., 2001. Uso alternativo de dietas formuladas en la alimentación de juveniles de erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Ensenada, Baja California. pp 101.
- Kirimura, J., Shimizu, A., Kimizuka, A., Ninomiya, T., Katsuya, N. 1969. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 17, 689–695.
- Kjeldahl, J., 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. Zeitschrift für Analytische Chemie. 22, 366.
- Klinger, T. S., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L. 1994. Digestive characteristics of the sea-urchin *Lytechinus variegatus* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea) fed prepared feeds. Journal of the World Aquaculture Society, 25, 489–496.
- Komata, Y., Kosugi, N., Ito, T. 1962. Studies on the extractives of "uni": 1. Free amino acid composition. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish, 28, 623–628
- Krause, G., 2006. Sea Urchins from Canada Marketing Initiative 2005/06 Project Report. Canadian Agriculture and Food International Program (CAFI). Explorations Unlimited Inc. Brentwood Bay, BC. pp 51.
- Kroh, A., 2013. Strongylocentrotus purpuratus (Stimpson, 1857). En: Kroh, A., Mooi, R. 2013. World
   Echinoidea Database. Consultado en Junio 13 de 2013.
   <a href="http://www.marinespecies.org/echinoidea/aphia.php?p=taxdetails&id=240747">http://www.marinespecies.org/echinoidea/aphia.php?p=taxdetails&id=240747</a>
- Kumaraguru-Vasagam, K. P., Ramesh, S., Balasubramanian, T. 2005. Dietary value of different vegetable oil in black tiger shrimp *Penaeus monodon* in the presence and absence of soy

- lecithin supplementation: Effect on growth, nutrient digestibility and body composition. Aquaculture, 250, 1-2,317-327.
- Ladah, L. B. 2003. The shoaling of nutrient-enriched subsurface waters as a mechanism to sustain primary productivity off Central Baja California during El Niño winters. Journal of Marine Systems, 42, 145-152.
- Lares, M. T., McClintock, J. B. 1991. The effects of food quality and temperature on the nutrition of the carnivorous sea urchin *Eucidaris tribuloides* (Lamarck). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 149, 279–286.
- Lasker, R., Giese, A. C. 1954. Nutrition of the sea urchin. *Strogylocentrotus purpuratus*. Biological Bulletin, 106, 328-340.
- Lawrence, J. M. 1975. On the relationships between marine plants and sea urchins. Oceanography Marine Biology: Annual Review, 13, 213–286.
- Lawrence, J. M. Lane, J. M. 1982. The utilization of nutrients by post metamorphic echinoderms. En: Jangoux, M., Lawrence, J. M. (eds.) Echinoderms nutrition. Balkema, Rotterdam. pp 331-371.
- Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., Kearns, J. P., Rockey, G. J. 1997. Sea urchin feed and method of producing same. United States Patent. Patent number: 5637333 USA.
- Lawrence, J. M., Olave, S., Otaiza, R., Lawrence, A. L., Bustos, E. 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. Journal of the World Aquaculture Society, 28, 91-96.
- Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., McBride, S. C., George, S. B., Watts, S. A., Plank, L. R. 2001. Developments in the use of prepared feeds in sea urchin aquaculture. World Aquaculture, 32(3), 34-39.
- Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., 2004. Importance, status and future research needs for formulated feeds for sea urchin aquaculture. En: Lawrence, J. M., Guzman, O. (eds.). Sea urchins: fisheries and aquaculture ecology. DEStech Publications, Lancaster, England. pp 275-283.
- Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., Watts, S. A. 2007. Feeding, digestion, and digestibility. En: Lawrence, J. M. (ed.). Edible Sea Urchins: Biology and Ecology, Second Edition. Elsevier Science B. V., Amsterdam. pp. 135–158.
- Lawrence, J. M., Cao, X., Chang, Y., Wang, P., Yu, Y., Lawrence, A. L., Watts, S. A. 2009. Temperature effect on feed consumption, absorption and assimilation efficiencies and production of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. Journal of Shellfish Research, 28 (2), 389–395.
- Lawrence, A. L., Lawrence, J. M., Watts, S. A., Powell, M. L., Jones, W. T., Hammer, H. S., Gibbs, V. K., 2010. Development and significance of semipurified and purified feeds (diets) for sea urchins. En: Harris, L. G., Bottger, S. A., Walker, C. W., Lesser, M. P. (eds). Proceedings of the International Echinoderm Conference. Durham, New Hampshire, USA. pp 427.

- Lawrence, J. M., Y, Chang., X, Cao., A, Lawrence., Watts, S. A., 2011. Potential for production of uni by Strongylocentrotus intermedius using dry formulated diets. Journal of the World Aquaculture Society, 42(2), 253-260.
- Lee, Y. Z., Haard, N. F. 1982. Evaluation of the green sea urchin gonads as a food source. Canadian Institute of Food Science and Technology 15, 233–235.
- Le Gall, P. 1990. Culture of echinoderms. En: Barnabé, G. (ed.). Aquaculture, Vol. 1. Ellis Horwood, New York. pp 443-462.
- Leighton, D., Jones, L., North, W. 1966. Ecological relationships between giant kelp and sea urchins in Southern California. En: Young, E., MacLachlan, J. (eds.). Proc. 5th Int. Seaweed Symposium. Pergamon, Oxford. pp 141-153
- Lewis, J. B. 1964. Feeding and digestion in the tropical *Diadema antillarum*. Philippi. Bulletin of Marine Sciences, 16, 151-158.
- Liu, H., Kelly, M. S., Cook, E. J., Black, K. D., Orr, H., Zhu, J. X., and Dong, S. L.2007. The effect of diet type on growth and fatty acid composition of sea urchin larvae, I. *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). Aquaculture, 265, 247-262.
- Luo, M.R., Cui, G., Riff, B. 2001. The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. Color Research and Application, 26(5), 340–350.
- Lu, S., Zhao, N., Zhao, A., He, R. 2008. Effect of soybean phospholipid supplementation in formulated microdiets and live food on foregut and liver histological changes of *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. Aquaculture, 278, 119–127.
- Liyana-Pathirana, C. M. 2001. Quality characteristics of green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) gonads as affected by the season and dietary factors. Tesis de Maestría. Memorial University of Newfoundland. Canada. pp 298.
- Liyana-Pathirana, C., Shahidi, F., Whittick, A. 2002a. The effect of an artificial diet on the biochemical composition of the gonads of the sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Rapid communication. Food Chemistry, 79, 461–472.
- Liyana-Pathirana, C., Shahidi, F., Whittick, A., Hooper, R. 2002b. Effect of season and artificial diet on amino acids and nucleic acids in gonads of green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* Comparative Biochemistry and Physiology Part A 133 389–398
- Marsh, A. D., Watts, S. A. 2007. Biochemical and energy requirements of gonad development. Chapter 3. En: Lawrence, J. M. (ed.). Edible Sea Urchins: Biology and Ecology. Amsterdam. Elsevier. pp 35-54.
- Marsh, A. G.; Watts, S. A. 2001. Energy metabolism and gonad development. En: Lawrence, J. M. (ed.). Edible sea urchins: biology and ecology. Developments in aquaculture and fisheries science, 32: pp. 27-42.

- Marshall, A. J., Williams, W. D. 1972. Textbook of Zoology Invertebrates. Seventh Edition. American Elsevier Publishing Company, Inc. New York. pp 873.
- Martinez-Pita, I., Garcia, F. J., Pita, M. L. 2010. The effect of seasonality on gonad fatty acids of the sea urchin *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* (Echinodermata: Echinoidea). Journal of Shellfish Research, 29 (2), 517-525.
- Martinez-Pita, I., Garcia, F. J., Pita, M. L. 2009. Males and females gonad fatty acids of the sea urchins Paracentrotus lividus and Arbacia lixula (Echinodermata). Helgoland Marine Research. 64, 174.
- Meidel, S. K. Scheilbling, R.E. 1999. Effects of food type and ration on reproductive maturation and growth of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Marine Biology, 134:155-166.
- Méndez, L., Racotta, I. S., Acosta, B., Rodriguez-Jaramillo, C. 2001. Mineral concentration in tissues during ovarian development of the white shrim *Penaeus vannamei* (Decapoda:Penaeidae). Marine Biology, 138: 687-692.
- McBride, S. C., Pinnix, W. D., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L. Mulligan, T. J. 1997. The effect of temperature on production of gonads by the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* fed natural and prepared diets. Journal of the World Aquaculture Society, 28, 357-365.
- McBride, S. C., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., Mulligan, T. J. 1998. The effect of protein concentration in prepared feeds on growth, feeding rate, total organic absorption, and gross assimilation efficiency of the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*. Journal of Shellfish Research, 17, 1563-1570.
- McBride, S. C., Lawrence J. M., Lawrence A. L., Mulligan, T. J. 1999. Ingestion, absorption and gonad production of adult *Strongylocentrotus franciscanus* fed different rations of a prepared diet. Journal of the World Aquaculture Society, 30, 364–370.
- McBride, S. C., Price, R. J., Tom, P. D., Lawrence, J. M., Lawrence, A. 2004. Comparison of gonad quality factors: color, hardness and resilience, of *Strongylocentrotus franciscanus* between sea urchins fed prepared feed or algal diets and sea urchins harvested from the Northern California fishery. Aquaculture, 233, 405-422.
- McEdward, L. R., Morgan, K. H. 2001. Egg and energy content of echinoderm with different life histories. Biological Bulletin. Woods Hole, MA, USA. pp 200, 33–50.
- McEdward, L. R., Miner, B. G. 2007. Echinoid larval ecology. En: Lawrence, J. M. (ed.). The Edible Sea Urchin: Biology and Ecology, Elsevier, Amsterdam. pp. 71–93.
- McClintock, J. B. Pearse, J. S. 1987. Biochemical composition of Antarctic echinoderms. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 86 (4), 683-687.

- Metcalfe, L., Schmitz, A., Pelka, J. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry. 38, 514-515.
- Minor, M. A., Scheibling, R. E. 1997. Effects of food ration and feeding regime on growth and reproduction of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Marine Biology, 129:159-167.
- Mita, M., A. Oguchi, S. Kikuyama, H. Namiki, I. Yasumasu., Nakamura, M. 1994. Comparison of sperm lipid components among four species of sea-urchin based on echinoid phylogeny. Comparative Biochemistry Physiology. Part B, 108, 417–422.
- Mita, M., Nakamura, M. 2001. Energy metabolism of sea urchin spermatozoa: the endogenous substrate and ultrastructural correlates. En: Jangoux, M., Lawrence, J. M. (eds.). Echinoderm studies 6. A. A. Balkema. pp. 85–110.
- Molina-Cárdenas, C. A. 2016. Aislamiento y caracterización de compuestos derivados de *Isochrysis* galbana con actividad sobre *Vibrio cholerae*. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California, México. 168 pp.
- Monroig, O., Tocher, D. R., Navarro, J. C. 2013. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: Recent advances in molecular mechanisms. Marine Drugs, 11 (10), 3998-4018.
- 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.
- Montero-Torreiro, M. F., Garcia-Martinez, P. 2003. Seasonal changes in the biochemical composition of body components of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, in Lorbé (Galicia, north-western Spain). Journal of the Marine Biological association of the United Kingdom, 83 (3), 575-581.
- Morris, R., Abbott, D., Haderlie, E. 1980. Intertidal Invertebrates of California. Stanford, CA. Stanford University Press. pp 690.
- Murata, Y., Yokoyama, M., Unuma, T., Sata, N. U., Kuwahara, R., Kaneniwa, M. 2002. Seasonal changes in bitterness and pulcherrimine content in gonads of green sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus* at Iwaki in Fukushima prefecture. Fisheries Science, 68, 184–189.
- Nayak, S. K., 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. Aquaculture Research, 41, 1553–1573.
- Nelson, L., Blair, B., Meade, M., Murdock, C., Watts, S., Lawrence, A. 2010. Molecular analysis of gut microflora in captive-raised sea urchins (*Lytechinus variegatus*). Journal of the World Aquaculture Society, 41, 807–815.
- Netleton, J. 2012. Omega-3 fatty acids and health. Spinger Science & Business Media. pp 359.

- Obrietan, K., Drinkwine, M., Williams, D. C. 1991. Amylase, cellulose and protease activities in surface and gut tissues of *Dendraster excentricus*, *Pisaster ochraceus* and *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinodermata). Marine Biology, 109, 53-57.
- Oudejans, R.C.H.M., Van der Sluis, I. 1979. Storage and depletion of lipid components in the pyloric caeca and ovaries of the seastar *Asterias rubens* during its annual cycle. Marine Biology, 53, 239-247.
- Olave, S., Bustos, E., Lawrence, J. M., Cárcamo, P. 2001. The effect of size and diet on gonad production by the Chilean sea urchin *Loxechinus albus*. Journal of the World Aquaculture Society, 32, 210-214.
- Osako, K., Hossain, M. A., Ruttanapornvareesakul, Y., Fujii, A., Kuwahara, K., Okamoto, A., Nagano, N. 2006. The aptitude of the green alga *Ulva pertusa* as a diet for purple sea urchin *Anthocidaris crassispina*. Aquaculture Science, 54, 15–23.
- Palleiro-Nayar, J. S., Lelevier-Grijalva, A., Navarrete-Gutiérrez, M., Romero-Martínez, J. M. 1988. Biología del erizo rojo, *S. franciscanus* y su pesquería en Baja California. En: SEPESCA (ed.). Pesquería en Baja California. Los recursos pesqueros del país. INAPESCA, México. pp 3-74.
- Palleiro-Nayar, J. S., Aguilar-Montero, D., Romero-Martínez, J. M., 1996. La pesquería del erizo de mar en Baja California, México. Las pesquerías relevantes de México. Aniversario del Instituto Nacional de la Pesca. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP). pp 313-335.
- Palleiro-Nayar, J. S., 2004. Dinámica de la población de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* sujeta a extracción comercial en Baja California. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). Ensenada, Baja California, México. pp 82.
- Palleiro-Nayar, J. S., Salgado-Rogel, M. L., Aguilar Montero, D. 2007. La pesquería del erizo rojo Strongylocentrotus franciscanus en Baja California en su temporada de captura 2007-2008. Instituto Nacional de la Pesca. pp 28
- Palleiro-Nayar, J. S., Salgado-Rogel, M. L., Aguilar Montero, D., 2008. La pesca de erizo morado Strongylocentrotus purpuratus, y su incremento poblacional en Baja California, México. Ciencia Pesquera, 16, 31–37.
- Palleiro-Nayar, J.; Salgado-Rogel, L., Castro, J. J., Caballero, F., Aguilar-Montero, D., Rivera-Ulloa, J. L. 2010. Estudio de las principales especies de importancia comercial de la comunidad bentónica de la Bahía del Rosario, Baja California. Instituto Nacional de Pesca. Dirección General de Investigación Pesquera en el Pacifico Norte. Informe Final de Investigación. pp 25.
- Palleiro-Nayar, J. S., Salgado-Rogel, M. L., Jiménez-Quiroz, M. C., 2012. Puntos de referencia para la pesquería de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en Baja California, considerando aspectos biológico pesqueros y ambientales. Ciencia Pesquera, 20 (1), 5-20.

- Pantazis, P. A., Kelly, M. S., Connolly, J. G., Black, K. D. 2000. Effect of artificial diets on growth, lipid utilization, and gonad biochemistry in the adult sea urchin *Psammechinus miliaris*. Journal of Shellfish Research, 19, 995-1001.
- Parker, D., Ebert, T. 2004. Purple sea urchin. En: Ryan, C., Patyten, M., 2004. (eds.). Annual status of the fisheries report through 2003. California Department of Fish and Game Marine Region, California, USA. pp 10-1-10-3.
- Pearce C. M., Daggett T. L. Robinson, S. M. C. 2003. Effects of starch type, macroalgal meal source, and β-carotene on gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller), fed prepared diets. Journal of Shellfish Research, 22 (1), 505-519.
- Pearce, C. M., Daggett, T. L., Robinson, S. M. C. 2004. Effect of urchin size and diet on gonad yield and quality in the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture, 233, 337–367.
- Pearce, C. M., Daggett, T. L., Robinson, S. M. C. 2002a. Effect of binder type and concentration on prepared feed stability and gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. Aquaculture, 205, 301–323.
- Pearce, C. M., Daggett, T. L., Robinson, S. M. C. 2002b. Effects of protein source ratio and protein concentration in prepared diets on gonad yield and quality of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Aquaculture, 214, 307–332.
- Pearce C. M., Daggett, T. L., Robinson, S. M. C. 2002c. Optimizing prepared feed ration for gonad production of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Journal of the World Aquaculture Society, 33, 268-276
- Pearce, C. M., Robinson, S. M.C. 2010. Recent advances in sea Urchin aquaculture and enhancement in Canada. En: Waddy, S. (ed.). Bulletin of the Aquaculture Association of Canada, pp 38-48.
- Pearse, J. S., Giese, A. C. 1966. Food reproduction and organic constitution of common Antarctic echinoid *Sterechinus neumayeri* (Meissner). The Biological Bulletin, 130, 378-401.
- Phillips, K., Bremer, P., Silcock, P., Hamid, N., Delahunty, C., Barker, M., Kissick, J., 2009. Effect of gender, diet and storage time on the physical properties and sensory quality of sea urchin (*Evechinus chloroticus*) gonads. Aquaculture, 288, 205–215.
- Phillips, K., Hamid, N., Silcock, P., Sewell, M. A., Barker, M., Weaver, A., Then, S., Delahunty, C., Bremer, P. 2010. Effect of manufactured diets on the yield, biochemical composition and sensory quality of *Evechinus chloroticus* sea urchin gonads. Aquaculture, 308, 49-59.
- Pilbrow, J., Garama, D., Carne, A. 2012. Carotenoid-binding protins; accessories to carotenoid function. Acta Biochinica Polonica. 59 (1), 163-165.
- Powell, M. L., Jones, W. T., Gibbs, V. K., Hammer, H. S., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., Watts, S. A., 2005. The effects of dietary copper on survival and growth parameters on the regular sea

- urchin, *Lytechinus variegatus*. Abstract. Journal of the Alabama Academy of Science, 76 (2), 100.
- Powell, M. L., Jones, W. T., Gibbs, V. K., Hammer, H. S., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., Watts, S. A. 2006. Copper is an essential nutrient and potential toxicant in the diet of the sea urchin (*Lytechinus variegatus*). Abstract. National Shellfisheries Association, Monterey, California. Annual Meeting, March 26–30. pp 763-764.
- Ramos-Gómez, F. 2009. Fish products-fresh, refrigerated sea urchin gonad-specifications. Secretaria de Economía de los Estados Unidos Mexicanos. NOM NMX-FF-112-SCFI-2009.
- Reynolds, J. A., Wilen, J. E. 2000. The sea urchin fishery: harvesting, processing and the market. *Marine Resource Economics*, 15, 115–126.
- Riaz, M. N. 2005. Soy applications in food. Taylor & Francis Group, CRC Press. Pp 304.
- Richmond, N., Schaefer, J., Wood, C., McCrae, J. 1997. History and Status of the Oregon Sea Urchin Fishery, 1986-1996. Oregon Department of Fish and Wildlife, Marine Resources Program, 2040 SE Marine Science Drive, Newport, Oregon. pp 29.
- Robinson, S. M. C., Castell, J. D., Kennedy, E. J. 2002. Developing suitable colour in the gonads of cultured green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture, 206, 289-303.
- Robinson, S. M. C. 2004. The evolving role of aquaculture in the global production of sea urchins. En: Lawrence J. M., Guzman, O. (eds.). Sea urchins fisheries and ecology. DEStech Publications, Lancaster, PA, pp. 343-357.
- Rodríguez-Montesinos, Y., Hernández-Carmona, G. 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. Ciencias Marinas, 17, 91-107.
- Rogers-Bennett, L. 2007. The ecology of *Strongylocentrotus franciscanus* and *Strongylocentrotus purpuratus*. En: Lawrence J. M. (ed.). Edible Sea urchins: Biology and Ecology, Elsevier Science B. V. pp 393-425.
- Romero-Orozco, E. J. 1982. Comparaciones de la estructura de una población de erizo rojo Strongylocentrotus franciscanus en Santo Tomas, B. C. México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Ensenada, Baja California, México
- Rutherford, S. M., Gilani, S. G., 2009. Amino acid analysis. Current protocols in protein Science, 58:11.9:11.9:1-11.9.37. doi: 10.1002/0471140864.ps1109s58.
- Rupert, E. E., Barnes, R. D. 1996. Zoología de los invertebrados. Sexta edición. McGraw-Hill interamericana de España.pp 1132.
- SAGARPA (Secretaria de Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2012. Anuario de Estadística Pesquera y Acuícola 2011 Baja California. Gobierno de México. SAGARPA. pp 103.

- Sargent, J. R., Tocher, D. R., Bell, J. G. 2002. The lipids, En: Halver, J. E., Hardy, R. W. (eds.). Fish Nutrition, 3rd edition. Academic Press, San Diego. pp. 181–257.
- Schlosser, S. C., Lupatsch, I., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L. Shpigel, M. 2005. Protein and energy digestibility and gonad development of the European sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) fed algal and prepared diets during spring and fall. Aquaculture Research, 36, 972-982.
- Senaratna, M., Evans, L. H., Southam, L., Tsvetnenko, E. 2005. Effect of different feed formulations on feed efficiency, gonad yield and gonad quality in the purple sea urchin *Heliocidaris erythrogramma*. Aquaculture Nutrition, 11, 199–207.
- SEPESCA (Secretaría de Pesca y Acuacultura del Estado de Baja California). 2010. III Informe de Gobierno. pp 59.
- Siikavuopio, S. I., Dale, T., Foss, A., Mortensen, A. 2004a. Effects of chronic ammonia exposure on gonad growth and survival in green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Aquaculture, 242, 313-320.
- Siikavuopio, S. I., Dale, T., A. Mortensen. 2007. The effects of stocking density on gonad growth, survival and feed intake of adult green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture, 262, 78-85.
- Siikavuopio, S. I. 2009. Green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*, Müller) in aquaculture: the effects of environmental factors on gonad growth. Tesis de Doctorado. Universitu of Tromsø, Norway. pp 74.
- Solís-Marín, F. A., Honey-Escandón, M. B. I., Herrero-Perezrul, M. D., Benítez-Villalobos, F., Díaz-Martínez, J. P., Buitrón- Sánchez, B- E., Palleiro-Nayar, J. S., Durán-González, A. 2013. The Echinoderms of Mexico: Biodiversity, Distribution and Current State of Knowledge (Chapter 2). En: Alvarado, J. J., Solís-Marín, F. A (eds.). Echinoderm Research and Diversity in Latin America, DOI: 10.1007/978-3-642-20051-9\_2 Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. pp 658.
- Sonnenholzner, J. I., Montaño-Moctezuma, G, Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A. 2011. Effect of macrophyte diet and initial size on the survival and somatic growth of sub adult *Strongylocentrotus purpuratus*: a laboratory experimental approach. Journal of Applied Phycology, 23, 505-513.
- Sonnenholzner, J. 2011. Crecimiento y validación de la edad del erizo morado *Strongylocentrotus* purpuratus (Stimpson 1857) en condiciones naturales y de laboratorio. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California. pp 212.
- Symonds, R. C., Kelly, M. S., Caris-Veyrat, C., Young, A. J. 2007. Carotenoids in the sea urchin *Paracentrotus lividus*: Occurrence of 9-cis-echinenone as the dominant carotenoid in gonad colour determination. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 148, 432–444.

- Symonds, R. C., Kelly, M. S., Suckling, C. C., Young, A. J. 2009. Carotenoids in the gonad and gut of the edible sea urchin *Psammechinus miliaris*. Aquaculture, 288, 120-125.
- Takagi, T., Eaton, C. A., Ackman, R. G. 1980. Distribution of fatty acids in lipids of the common Atlantic sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37, 195-202.
- Taylor, A. 2006. Effects of dietary carbohydrate on weight gain and gonad production in juvenile sea urchins, *Lytechinus variegatus*. Tesis de Maestría. University of Alabama at Birmingham. pp 91.
- Taylor, J. C., Lawrence, A. L., Watts, S. A. 2014. Select light spectra affect gonad color in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Marine and Freshwater Behavior and Physiology, 47 (6), 415–428.
- Tsushima, M., Matsuno, T. 1990. Comparative biochemical studies of carotenoids in sea urchins-1. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 96: 801–810.
- Uki, N. Watanabe, T. 1992. Review of the nutritional requirements of abalone (*Haliotis* spp.) and development of more efficient diets. En: Shepherd, S.A., Tegner, M. J., Guzmán-del Próo, S.A. (eds.). Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture, Fishing News Books, Oxford, pp. 504-517.
- Unuma, T. 2002. Gonadal growth and its relationship to aquaculture in sea urchins. En: Yokota, Y., Matranga, V., Smolenicka, Z. (eds.), The sea urchin: From basic biology to aquaculture, pp, 115–127. Swets & Zeitlinger, Lisse, Netherlands.
- Unuma, T. Walker, C. W. 2009. Relationship between gametogenesis and food quality in sea urchin gonads. En: Stickney, R., Iwamoto, R., Rust, M. (eds.). Aquaculture Technologies for Invertebrates. Proceedings of the 36th U.S.-Japan Aquaculture Panel Symposium. pp. 45–53. Durham, New Hampshire, October 29-30, and Milfford, Connecticut, November 2, 2007. U.S. Department Commerce, NOAA Tech. Memo. NMFS-F/SPO-99.
- Walker, C. W., Lesser, M. 1998. Manipulation of food and photoperiod promotes out-of-season gametogenesis in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis* implications for aquaculture. Marine Biology, 132, 663-676.
- Walker, C. W., Boettger, S. A., Unuma, T., Watts, S. A., Harris, L. G., Lawrence, A. L., Eddy, S. D. 2015. (Chapter 12) Enhancing the commercial quality of edible sea urchin gonads-technologies emphasizing nutritive phagocytes. En: Browm, N. P., Eddy, S. D. (eds.). Echinoderm Aquaculture, First Edition. John Wiley & Sons, Inc. USA. pp 263-286.
- Walker, C. W., Unuma, T., Lesser, M. P. 2007. Gametogenesis and reproduction of sea urchins. En: Lawrence, J. M. (ed.). Edible sea urchins: biology and ecology. Developments in aquaculture and fisheries science. Amsterdam: Elsevier. pp. 11–33.
- Walsh, G. 2002. Proteins biochemistry and biotechnology. Jhon Wiley & Sons Ltd. England. pp 547.

- Wang, L., Zuo, D., Lv, W., Li, J., Wang, Q., Zhao, Y. 2013. Effects of dietary soybean lecithin on gonadal development and vitellogenin mRNA expression in the female redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens) at first maturation. Review article. Aquaculture Research, 44, 1167–1176.
- Watts, S. A., Boettger, A., McClintock, J. B., Lawrence, J. M. 1998. Gonad production in the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Lamarck) fed prepared diets. Journal of Shellfish Research, 15 (5), 1591-1595.
- Watts, S. A., Lawrence, J. M., Lawrence, A. L. 2010. Approaches to the study of sea urchin nutrition. En: Harris, L. G., Bottger, S. A., Walker, C. W., Lesser, M. P. (eds.). Proceedings of the International Echinoderm Conference. Durham, New Hampshire, USA. pp 331–345.
- Watts, S., Lawrence, A. L., Lawrence, J. M. 2013. Nutrition (Chapter 10). En: Lawrence, J. M (ed.). Sea Urchins: Biology and Ecology (Third Edition). Academic Press Elsevier B. V. Amsterdam, Germany. pp. 156–169.
- Webster, C. D. 2002. Hybrid striped bass. En: Webster, C. D., Lim, C. (eds.). Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculturem. pp 418.
- Wilson, R. P. 2002. Fish Nutrition (Chapter 3) Amino acids and proteins. En: Halver, J. E., Hardy, R. (eds.). Fish Nutrition (Third Edition). Elsevier Science (USA). pp 143-179.
- Woods, C. M. C., James, P. J., Moss, G. A., Wright, J., Siikavuopio, S. I. 2008. A comparison of the effect of urchin size and diet on gonad yield and quality in the sea urchin *Evechinus chloroticus* Valenciennes. Aquaculture International, 16, 49-68.
- Yuan, Y. Heflin, L. E., Powell, M. L., Lawrence, A. L., Watts, S. 2016. Macronutrient allocation varies with dietary protein and carbohydrate levels in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Book of Abstracts, Aquaculture America 2016. Las Vegas, NV, USA. pp 890.
- Zalutskaya, E. A., Varaksina G. S., Khotimchenco Y. S. 1986. Glycogen-content in the ovaries of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. Biologiya Morya, 12, 38-44.
- Zar, J. H., 2010. Biostatistical Analysis (Fifth Edition). Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. pp 944.
- Zhao, C., Sun, P., Zhou, H., Tian, X., Feng, W., Chang, Y. 2014. Heritability and phenotypic correlations of gonad sweetness in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. Aquaculture International, 22:1737–1742. DOI 10.1007/s10499-014-9778-2
- Zimbro, M. J., Power, D. A., Miller, S. M., Wilson, G. E. Johnson, J. A. 2009. Difco and BBL Manual. Manual of Microbiological Culture Media (Second edition). BD Diagnostics – Diagnostic Systems, Loveton Circle Sparks, Maryland, USA. pp. 530-531.

#### **Anexos**

### A. Porcentajes de recuperación del alimento de los tres ensayos experimentales

Se realizó la valoración de la estabilidad del alimento midiendo el porcentaje de recuperación de las dietas, luego de haber estado sumergidas en las condiciones de cultivo (sin organismos) durante 24 h, de acuerdo a lo descrito por Uki y Watanabe (1992).

Tabla 24. Porcentaje de recuperación de las dietas de los tres ensayos experimentales.

Experimento 1	PA-CB 30/42	PMA-CMB 26/46	PM-CM 23/50	PMB-CMA 20/54	PB-CA 17/58	
% de recuperación	94.8 ± 1.5	97.3 ± 0.6	95.5 ± 6.4	92.1 ± 1.0	97.4 ± 0.8	
Experimento 2	PA-CB 30/42	PA-CA 30/50	PM-CB 23/42	PM-CA 23/50	PB-CB 17/42	PA-CA 17/50
% de recuperación	95.6 ± 0.6	94.7 ± 3.7	97.5 ± 0.7	91.9 ± 1.2	93.6 ± 0.5	96.7 ± 0.3
Experimento 3	BA-SL 0/0	BA-BL 0/2	BA-AL 0/4	AA/SL 3/0	AA/BL 3/2	AA-AL 3/4
% de recuperación	99.4 ± 0.01	99.9 ± 0.0	99.7 ± 0.2	99.0 ± 0.9	98.5 ± 0.1	99.8 ± 0.1

### B. Validación de las mediciones del colorímetro NR100, con las mediciones del colorímetro Hunter Lab Scan XE.

Dado que el colorímetro de mayor uso en la industria de alimentos y el equipo más empleado en la coloración del color de las gónadas en erizos de mares el equipo Hunter Lab Scan XE, se decidió realizar una validación de los valores obtenidos con el colorímetro NR100 utilizado en el presente estudio.

Para esto, se realizaron mediciones de las coordenadas Lab del abanico de color DSM con ambos equipos y se realizaron regresiones lineales de los datos obtenidos (Tabla 25). La correlación obtenida para los valores de L\* fue de R= 0.99, para los valores de a\* fue de R = 0.99 y para los valores de b\* fue de R= 0.97 (Figura 49). Por lo que se concluye que el colorímetro NR100 es apropiado para realizar las mediciones de las coordenadas de color en las gónadas de erizo de mar, y los resultados son comparables con los estudios en los que se utiliza el colorímetro Hunter Lab Scan XE.

Tabla 25. Valores CIE  $L^*$   $a^*$   $b^*$  obtenidos del colorímetro HunterLab Scan XE y del colorímetro NR100, se muestra la diferencia en ambas observaciones  $\Delta E_{00}$ .

Carta de color	Hunter Scan XE	NR100	Hunter Scan XE	NR100	Hunter Scan XE	NR100	ΔΕ <sub>00</sub> (%)
No.		L*	а	*	b	*	_
1	80.3	80.95	3.62	0.89	48.67	56.34	3.1
2	79.41	79.84	7.16	4.66	55.77	65.66	3.4
3	80.39	80.95	9.18	6.52	59.88	70.58	3.6
4	80.32	80.72	10.53	8.34	66.34	79.01	3.7
5	77.55	77.68	15.86	14.66	72.49	87.99	4.0
6	76.27	76.38	17.78	17.11	75	91.04	4.0
7	76.29	75.45	20.07	22.67	80.5	98.98	3.8
8	76.63	76.2	23.05	24.17	82.6	100.56	3.9
9	74.77	74	26.36	28.8	83.2	101.65	3.8
10	73.22	72.64	29.89	32.28	81.1	98.06	3.7
11	71.44	70.61	32.17	35.97	78.63	93.73	3.2
12	68.02	66.76	36.11	43.82	77.39	88.59	3.0
13	67.57	66.8	39.11	47.94	75.69	86.4	3.1
14	64.81	63.13	41.73	51.91	69.67	78.33	3.7
15	62.02	59.79	45.01	55.97	64.34	70.81	4.1

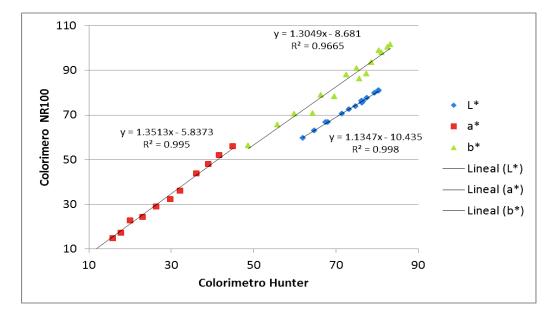


Figura 49. Regresión lineal de las observaciones de los valores CIE  $L^*a^*b^*$  obtenidos del colorímetro HunterLab Scan XE y del colorímetro NR100, se muestra el coeficiente de determinación  $R^2$  de cada coordenada.

## C. Curvas de calibración de los aminoácidos del estándar de 1000 pico mol/ $\mu L$ de Agilent Technologies.

Para la realización de las curvas de calibración de los 17 aminoácidos, se utilizó el estándar de 1000 pico mol/  $\mu$ L de Agilent Technologies. Se realizaron diluciones seriadas con HCl 0.1 M y se obtuvieron las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 pico mol/  $\mu$ L.

Cada dilución fue valorada por HPLC de acuerdo con la metodología descrita en la sección 2.3.6.3. Se realizaron tres corridas por cada concentración del estándar de aminoácidos. Las ecuaciones de la curva y los coeficientes de correlación de los 17 aminoácidos están expresados en la Tabla 26. Las ecuaciones expresadas fueron las utilizadas para la cuantificación de los aminoácidos de los tres ensayos de alimentación de este estudio.

Tabla 26. Curva de calibración de cada aminoácido del estándar de 1000 pico mol  $\mu L^{-1}$  de Agilent Technologies.

Aminoácido	Ecuación	R <sup>2</sup>
Aspartato	0.4644 x-9.5	0.99
glutamato	0.3705 x-41.05	0.98
serina	0.5164 x-23.85	0.98
Histidina	0.2252 x-7.6	1.00
Glicina	0.4794 x-18.35	0.98
Treonina	0.3027 x +27.25	0.99
Arginina	0.5295 x -28.95	0.98
Alanina	0.5568 x-31.55	0.98
Tirosina	0.5132 x-27.25	0.98
Cisteína	0.8752 x-41.7	0.99
Valina	0.5762 x-34	0.98
Metionina	0.4862 x-24.05	0.98
Fenilalanina	0.2854 x-9.25	0.99
Isoleucina	0.2906 x-10.25	0.99
Leucina	0.5097 x-21.25	0.99
Lisina	0.53 x-53.1	0.98
Prolina	0.8456 x - 29	0.97

### D. Cantidad (prom ± DE) de ácidos grasos en las dietas del Experimentales.

Tabla 27. Cantidad (prom ± DE) de mg de Ag por 100 g de dieta seca en las dietas del Exp. 1. En dónde: PA-CB = proteína alta - carbohidrato bajo; PMA-CMB = proteína media alta - carbohidrato medio bajo; PM-CM = proteína media - carbohidrato medio; PMB-CMA = proteína media baja - carbohidrato medio alto y PB-CA = proteína baja - carbohidrato alto.

Ácido graso	PA-CB	PMA-CMB	PM-CM	PMB-CMA	PB-CA
C12	0.4±0.0	0.4±0.1	0.3±0.0	0.0±0.0	0.3±0.0
C13	0.2±0.0	0.2±0.0	$0.0 \pm 0.0$	0.0±0.0	1.3±0.2
C14	19.8±3.0	24.8±2.4	18.7±3.9	12.6±0.3	104.5±11.9
C15	3.5±0.5	4.5±0.3	2.8±0.5	2.3±0.0	2.9±0.2
C16	182.2±32.7	182.1±10.1	171.4±16.5	140.7±9.0	155.0±5.8
C17	8.5±1.5	9.5±1.3	7.7±1.5	7.6±1.5	1.8±0.3
C18	51.8±13.2	56.5±11.2	42.9±0.1	43.6±3.5	23.4±4.6
C20	3.6±1.2	5.1±0.7	3.4±0.1	3.5±0.3	6.1±0.4
C22	0.8±0.3	0.3±0.6	$0.0\pm0.0$	$0.0\pm0.0$	$0.0\pm0.0$
C24	116.5±0.0	117.3±26.1	102.8±2.7	98.8±6.7	50.9±9.8
C14:1	0.9±0.1	1.3±0.0	1.1±0.2	0.0±0.0	8.2±1.9
C15:1	0.6±0.0	1.4±0.0	0.4±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
C16:1	42.1±5.9	56.8±7.3	37.5±4.7	34.2±2.7	27.5±3.0
C17:1	3.5±1.3	4.3±1.1	2.9±0.5	3.8±1.2	4.7±1.5
C18:1 <i>n</i> -9	129.0±38.7	140.6±21.5	112.1±2.3	106.8±1.0	41.2±4.3
C22:1 <i>n</i> -9	10.5±0.0	11.9±2.1	9.1±0.3	9.4±0.8	16.5±0.8
C24:1 <i>n</i> -9	1.6±2.2	0.0±0.0	2.6±0.0	1.5±1.3	2.6±4.5
C19:2n 6	87.9±17.7	120.5±6.7	89.1±14.2	81.0±10.5	28.0±5.3
C18:2 <i>n</i> -6 trans	87.9±17.7 0.0±0.0	5.2±0.7	89.1±14.2 0.0±0.0	81.0±10.5 0.2±0.0	28.0±5.3 18.1±2.1
C18:2 <i>n</i> -6 <sub>Cis</sub> C20:2 <i>n</i> -6	0.0±0.0 13.6±0.0	5.2±0.7 15.5±4.6	0.0±0.0 8.5±0.1	0.2±0.0 10.9±2.4	45.6±3.8
C20:2 <i>II</i> -6					
C20:271-6 C18:3 <i>n</i> -6	13.6±0.0	15.5±4.6	8.5±0.1 26.3±1.1	10.9±2.4 19.0±4.1	45.6±3.8
	68.4±0.0	2.6±0.6			2.2±1.2
C20:3 <i>n</i> -6	1.6±0.4	1.8±0.8	1.5±0.0	1.3±0.1	5.3±3.7
C20:4 <i>n</i> -6	15.6±4.1	20.5±0.6	16.7±4.9	14.0±0.7	52.8±13.2
C18:3 <i>n</i> -3	17.8±3.0	11.1±1.3	21.3±8.3	17.4±1.2	8.5±1.1
C20:3 <i>n</i> -3	0.0±0.0	0.7±0.1	0.9±0.1	0.8±0.2	4.7±4.0
C20:5 <i>n</i> -3	116.9±28.0	130.6±1.0	125.7±15.2	121.0±8.4	96.1±8.6
C22:6 <i>n</i> -3	70.3±0.0	74.5±7.9	95.6±1.1	60.0±5.2	27.4±1.8

Tabla 28. Cantidad (prom ± DE) de mg de Ag por 100 g de dieta seca en las dietas del Exp.2. En dónde: Proteína alta - carbohidrato bajo (PA-CB); proteína alta - carbohidrato alto (PA-CA); proteína media - carbohidrato bajo (PM-CB); proteína media - carbohidrato alto (PM-CA); proteína baja - carbohidrato bajo (PB-CB); proteína baja - carbohidrato alto (PB-CA).

Ácido graso	PA-CB	PA-CA	PM-CB	PM-CA	PB-CB	PB-CA
C12	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
C13	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
C14	45.5±3.5	39.4±2.4	33.1±2.1	40.6±4.1	22.3±0.6	36.0±1.9
C15	5.8±0.3	4.8±0.1	4.1±0.1	5.2±0.5	2.9±0.0	4.9±0.3
C16	300.3±7.1	270.7±5.8	227.3±4.9	294.7±24.4	181.6±2.0	292.3±8.4
C17	10.4±0.3	9.7±0.3	8.2±0.3	11.3±1.0	7.0±0.1	12.7±1.2
C18	82.2±0.8	83.5±5.4	70.1±4.6	91.4±7.8	64.8±6.1	98.9±5.8
C20	5.5±0.0	6.4±0.2	5.4±0.2	7.3±0.6	5.3±0.1	8.0±0.8
C22	17.5±0.8	21.2±0.4	17.8±0.4	23.5±2.5	16.6±0.3	26.3±2.7
C14:1	$0.0\pm0.0$	0.0±0.0	$0.0 \pm 0.0$	$0.0 \pm 0.0$	$0.0\pm0.0$	0.0±0.0
C15:1	0.2±0.4	0.0±0.0	$0.0 \pm 0.0$	0.0±0.0	$0.0\pm0.0$	0.0±0.0
C16:1	59.4±2.5	50.6±0.1	42.5±0.1	57.0±4.8	30.9±0.0	59.4±4.7
C17:1	5.3±2.9	3.5±0.1	3.0±0.0	4.0±0.3	2.4±0.0	4.4±0.3
C18:1 <i>n</i> -9	189.7±3.2	183.5±1.2	154.1±1.0	195.5±0.5	131.5±1.7	200.8±1.1
C22:1 <i>n</i> -9	$0.0\pm0.0$	$0.0\pm0.0$	$0.0 \pm 0.0$	$0.0 \pm 0.0$	$0.0\pm0.0$	0.0±0.0
C24:1 <i>n</i> -9	5.1±0.9	6.5±0.1	5.5±0.1	8.1±2.1	5.5±0.9	4.6±4.0
C18:2 <i>n</i> -6 trans	134.9±3.7	144.5±1.2	121.4±1.0	158.6±11.4	128.2±1.3	177.0±2.9
C18:2 <i>n</i> -6 <sub>Cis</sub>	27.8±1.1	18.6±16.2	15.6±13.6	31.6±4.4	21.7±0.9	37.5±0.8
C20:2 <i>n</i> -6	0.0±0.0	1.1±1.9	0.9±1.6	3.5±0.3	1.5±1.3	1.4±2.5
C18:3 <i>n</i> -6	0.0±0.0	4.4±0.1	3.8±0.1	5.1±0.4	3.3±0.0	5.8±0.5
C20: 3 <i>n</i> -6	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	$0.0\pm0.0$	$0.0\pm0.0$	26.3±2.2
C20:4 <i>n</i> -6	8.6±0.1	9.1±0.1	7.7±0.1	10.1±0.7	6.6±0.1	11.0±1.0
C18:3 <i>n</i> -3	2.9±0.1	1.8±1.6	1.5±1.3	2.9±0.2	1.2±1.0	3.3±0.3
C20:3 <i>n</i> -3	28.6±0.4	25.6±0.7	21.5±0.6	25.1±2.0	15.3±0.4	0.0±0.0
C20:5 <i>n</i> -3	197.4±2.3	203.3±2.5	170.8±2.1	212.7±15.0	136.6±1.9	242.7±21.0
C22:6n-3	229.6±5.6	221.6±1.8	186.0±1.5	196.7±18.5	131.6±2.1	228.4±18.9

Tabla 29. Cantidad (prom ± DE) de mg de Ag por 100 g de dieta seca en las dietas del Exp.3. En dónde: Bajo aceite de pescado - sin lecitina de soya (BA-SL); bajo aceite de pescado - baja lecitina de soya (BA-BL); bajo aceite de pescado - alta lecitina de soya (BA-AL); alto aceite de pescado - sin lecitina de soya (AA-SL); alto aceite de pescado - baja lecitina de soya (AA-BL); alto aceite de pescado - alta lecitina de soya (AA-AL).

Ácido graso	BA-SL	BA-BL	BA-AL	AA-SL	AA-BL	AA-AL
C12	0.9±0.0	0.6±0.0	0.5±0.0	0.9±0.2	1.3±0.2	0.9±0.1
C13	13.6±7.7	21.4±6.9	17.9±8.0	21.0±4.7	50.4±9.3	37.4±3.8
C14	54.3±0.8	34.8±1.5	25.4±0.3	59.1±12.8	70.4±16.8	50.7±8.8
C15	2.8±4.0	5.5±0.2	4.1±0.0	9.1±2.7	11.6±2.4	8.9±1.3
C16	250.4±2.2	407.8±6.8	366.1±2.4	495.7±4.8	680.0±21.8	703.2±5.5
C17	3.5±0.5	2.5±0.2	2.2±0.3	9.0±3.6	10.4±2.5	8.0±1.8
C18	29.7±0.3	36.4±0.3	30.1±0.5	361.9±53.2	482.6±40.7	439.5±25.9
C20	12.5±0.9	9.0±0.4	6.0±0.2	9.6±0.3	10.1±2.2	7.6±1.2
C22	6.3±0.1	4.8±0.3	4.1±0.6	51.0±0.2	52.3±13.5	39.5±7.6
C14:1	0.4±0.0	0.9±0.0	0.7±0.0	1.9±0.7	2.3±0.6	1.6±0.3
C15:1	5.0±4.4	0.6±0.0	0.6±0.0	0.2±0.3	0.0±0.0	0.8±0.1
C16:1	54.0±1.0	34.9±0.4	26.3±0.3	129.8±0.6	114.8±0.8	93.9±21.4
C17:1	113.5±1.5	180.8±1.3	154.9±1.7	156.7±17.5	210.0±12.9	198.5±5.8
C18:1 <i>n</i> -9	53.4±1.0	814.1±3.6	791.9±6.5	99.6±1.1	897.3±36.8	1286.3±6.2
C22:1 <i>n</i> -9	3.9±0.3	1.8±0.1	1.6±0.2	9.4±2.2	10.3±2.9	8.0±1.6
C24:1 <i>n</i> -9	7.0±0.2	4.2±0.0	2.9±0.1	16.8±0.3	16.4±4.3	12.2±1.7
C18:2 <i>n</i> -6 trans	1.8±0.3	1.0±0.0	0.8±0.2	10.1±4.0	12.6±3.6	9.4±2.6
C18:2 <i>n</i> -6 <sub>Cis</sub>	15.2±0.6	108.9±0.6	105.2±0.8	129.3±0.1	142.7±6.8	171.6±24.0
C18:3 <i>n</i> -6	14.8±0.2	9.2±0.3	7.2±0.4	82.2±0.6	73.5±0.3	60.6±13.2
C20:2 <i>n</i> -6	2.9±0.3	2.0±0.2	1.0±0.8	48.4±14.2	58.7±14.8	43.1±7.5
C20: 3 <i>n</i> -6	2.3±0.0	1.9±0.1	1.4±0.0	5.7±0.6	6.5±1.5	5.1±0.7
C20:4 <i>n</i> -6	33.2±0.2	20.1±0.8	14.1±0.7	49.3±12.7	59.5±14.4	45.4±8.0
C18:3 <i>n</i> -3	4.1±0.2	4.5±0.1	3.5±0.2	14.7±3.8	18.5±3.6	15.3±1.6
C20:3 <i>n</i> -3	1.0±0.1	$0.0\pm0.0$	0.0±0.0	3.3±0.2	2.6±0.3	3.0±0.2
C20:5 <i>n</i> -3	89.0±0.5	53.1±0.2	37.4±1.5	526.1±0.1	459.4±5.1	345.4±1.3
C22:6n-3	168.2±1.1	107.5±2.3	76.2±1.0	468.5±2.3	411.1±4.1	319.9±1.3

### E. Valoración numérica para la selección de dietas

Con el fin de realizar una selección de las dietas que fuesen más apropiadas para el crecimiento y mejora de la calidad gonadal de una forma combinada, se atribuyeron valores numéricos de acuerdo con las diferencias estadísticas obtenidas luego de haber realizado una prueba *post hoc*. En las ocasiones en las que no se observaron diferencias significativas (NS), se atribuyó una escala numérica de 1 a 5 de menor a mayor de acuerdo a la variable observada; que para el caso de las características subjetivas de calidad gonadal es inverso, ya que en estas variables la menor valoración indica una mejora de la calidad (Tabla 30). Los valores numéricos atribuidos a las diferencias obtenidas, fueron multiplicados por el porcentaje de importancia atribuida de cada variable (i.e 60% peso gonadal). Al finalizar se realizó la sumatoria de la importancia de crecimiento y calidad para seleccionar las dietas más apropiadas (Tabla 31) (Tabla 32) (Tabla 33).

Tabla 30. Escala de calificación para cada variable de acuerdo a su estadística obtenida del ANOVA de una vía.

Valor numérico	Letra obtenida del ANOVA	Letra obtenida del ANOVA en calidad subjetiva (Inversos)
9	а	e
8	ab	de
7	b	d
6	bc	cd
5	С	С
4	cd	bc
3	d	b
2	de	ab
1	e	a
1-6 de menor a mayor	NS	NS

Tabla 31. Puntuación de las variables analizadas en cada una de las dietas experimentales del primer ensayo y su valor de importancia atribuida (Imp.).

Importancia atribuida (%)	Variable	PA - CB 30/42	Imp.	PMA-CMB 26/46	Imp.	PM-CM 23/50	Imp.	PMB - CMA 20/54	lmp.	PB-CA 17/58	lmp.
60	Peso gónada	4	240	3	180	5	300	1	60	2	120
40	Índice gonadal Importancia	5	200	3	120	4	160	1	40	2	80
	crecimiento gonadal	9	440	6	300	9	460	2	100	4	200
20	Luminosidad	2	40	4	80	3	60	1	20	5	100
10	Matiz	5	50	1	10	2	20	4	40	3	30
10	Croma	4	40	3	30	2	20	1	10	5	50
5	Color subjetivo	4	20	2	10	1	5	5	25	3	15
5	Textura	5	25	4	20	3	15	1	5	2	10
5	Firmeza	5	25	2	10	4	20	1	5	3	15
45	Sabor	1	45	2	90	3	135	5	225	4	18
	Importancia de Calidad	26	245	18	250	18	275	18	330	25	400
	Total	35	685	24	550	27	735	20	430	29	600

Tabla 32. Puntuación de las variables analizadas en cada una de las dietas experimentales del segundo ensayo. y su valor de importancia atribuida (Imp.).

Importancia atribuida (%)	Variable	PA-CB 30/42	Imp.	PA-CA 30/50	lmp.	PM-CB 23/42	lmp.	PM-CA 23/50	lmp.	PB-CB 17/42	lmp.	PB-CA 17/50	lmp.
60	Peso gónada	5	300	6	360	1	60	4	240	2	120	3	180
40	Índice gonadal	8	320	9	360	7	280	8	320	8	320	8	320
	Importancia crecimiento gonadal	13	620	15	720	8	340	12	560	10	440	11	500
20	Luminosidad	3	60	1	20	4	80	6	120	5	100	2	40
10	Matiz	2	20	1	10	5	50	4	40	6	60	3	30
10	Croma	8	80	5	50	9	90	9	90	8	80	6	60
5	Color subjetivo	3	15	3	15	3	15	3	15	3	15	3	15
5	Textura	4	20	3	15	5	25	1	5	2	10	6	30
5	Firmeza	4	20	5	25	4	20	4	20	3	15	4	20
45	Sabor	1	45	2	90	3	135	3	135	3	135	3	135
	Importancia de Calidad	25	260	20	225	33	415	30	425	30	415	27	330
To	otal	38	880	35	945	41	755	42	985	40	855	38	830

Tabla 33. Puntuación de las variables analizadas en cada una de las dietas experimentales del tercer ensayo. y su valor de importancia atribuida (Imp.).

Importancia atribuida (%)	Variable	BA-SL 0/0	Imp.	BA-BL 0/2	Imp.	BA-AL 0/4	lmp.	AA-SL 3/0	Imp.	AA-BL 3/2	lmp.	AA-AL 3/4	lmp.
60	Peso gónada	1	60	2	120	4	240	3	180	6	360	5	300
40	Índice gonadal	1	40	3	120	2	80	6	240	4	160	5	200
	Importancia crecimiento gonadal	2	100	5	240	6	320	9	420	10	520	10	500
20	Luminosidad	1	20	4	80	6	120	2	40	3	60	5	100
10	Matiz	7	70	7	70	7	70	7	70	7	70	7	70
10	Croma	1	10	2	20	3	30	6	60	4	40	5	50
5	Color subjetivo	7	35	7	35	7	35	7	35	7	35	7	35
5	Textura	5	25	1	5	2	10	6	30	4	20	3	15
5	Firmeza	8	40	8	40	8	40	7	35	8	40	8	40
45	Sabor	1	45	5	225	4	180	6	270	3	135	2	90
	Importancia de Calidad	30	245	34	475	37	485	41	540	36	400	37	400
To	otal	32	345	39	715	43	805	50	960	46	920	47	900

# F. Correlaciones de los niveles de inclusión de los macronutrientes en dieta y los atributos gonadales de *S. purpuratus*.

Tabla 34. Correlación de las dietas del Exp.1. Razón de proteína/ carbohidrato vs. los atributos gonadales a la semana 9 de alimentación. Se indica el valor de R;  $\alpha$  = 0.05.

ietas	Atributo en las gónadas	R	P valor
	PG	0.21	0.44
	IG	0.20	0.46
	Textura	0.45	0.08
	Firmeza	0.22	0.41
	Color	0.04	0.86
	Sabor	0.44	0.04
	TCD	0.39	0.019
	TCAG	0.57	0.025
Proteína/carbohidrato	CDA	0.78	0.0005
	CDAP	0.93	0.0000
	TEPG	0.96	0.0000
	Proteínas	0.39	0.14
	Lípidos	0.61	0.01
	Cenizas	0.06	0.80
	ELN	0.58	0.02

Tabla 35. Correlación de la inclusión de proteína en las dietas del Exp.2 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R;  $\alpha$  = 0.05.

Dietas	Atributo en las gónadas	R	P valor
	PG	0.10	0.20
	IG	0.08	0.28
	Textura	0.02	0.81
	Firmeza	0.28	0.0003
	Color	0.02	0.80
	Sabor	0.47	0.008
	TCD	0.59	0.009
Nivel de proteína de	TCAG	0.14	0.57
17 , 23 y 30%	CDA	0.28	0.24
	CDAP	0.74	0.0004
	TEPG	0.69	0.0014
	Proteína	0.21	0.38
	Lípido	0.85	0.00005
	ELN	0.0.4	0.90
	Cenizas	0.02	0.93

Tabla 36. Correlación de la inclusión de carbohidrato en las dietas del Exp.2 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R;  $\alpha$  = 0.05.

Dietas	Atributo en las gónadas	R	P valor
	PG	0.04	0.60
	IG	0.16	0.04
	Textura	0.008	0.91
	Firmeza	0.09	0.24
	Color	0.06	0.41
	Sabor	0.35	0.06
	TCD	0.26	0.3
Nivel de Carbohidrato de 42 y 50%	TCAG	0.28	0.24
	CDA	0.21	0.39
	CDAP	0.36	0.14
	TEPG	0.02	0.94
	Proteína	0.38	0.12
	Lípido	0.08	0.73
	ELN	0.39	0.1
	Cenizas	0.48	0.03

Tabla 37. Correlación de la inclusión de aceite de pescado en las dietas del Exp.3 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R;  $\alpha$  = 0.05.

Dietas	Atributo en las gónadas	R	P valor
	PG	0.12	0.20
	IG	0.11	0.22
	Textura	0.09	0.31
	Firmeza	0.17	0.06
	Color	0.05	0.59
	Sabor	0.03	0.89
	TCD	0.20	0.42
Nivel de Aceite de pescado	TCAG	0.61	0.006
0 y 3%	CDA	0.52	0.02
	CDAP	0.31	0.21
	TEPG	0.55	0.017 0.028
	Proteína	0.51	
	Lípido	0.23	0.36
	ELN	0.56	0.016
	Cenizas	0.12	0.62

Tabla 38. Correlación de la inclusión de lecitina de soya en las dietas del Exp.3 vs. los atributos gonadales a la semana 12 de alimentación. Se indica el valor de R;  $\alpha$  = 0.05.

Dietas	Atributo en las gónadas	R	P valor	
	PG	0.03	0.69	
	IG	0.03	0.67	
	Textura	0.14	0.11	
	Firmeza	0.01	0.88	
	Color	0.02	0.85	
	Sabor	0.10	0.55	
	TCD	0.43	0.07	
Nivel de lecitina de soya	TCAG	0.41	0.08	
0, 2 y 4%	CDA	0.05	0.84	
	CDAP	0.13	0.59	
	TEPG	0.43	0.07	
	Proteína	0.06	0.81	
	Lípido	0.11	0.64	
	ELN	0.03	0.91	
	Cenizas	0.03	0.91	