

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos de Autor.

CICESE@ 2023. Todos los derechos reservados

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



---

**Maestría en Ciencias  
en Acuicultura**

---

**Evaluación de la sustitución parcial y total de la harina de  
pescado por harina de subproducto avícola, en juveniles de  
lobina rayada (*Morone saxatilis*): efecto en el crecimiento, la  
actividad enzimática, digestibilidad y calidad nutrimental del  
músculo**

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

Presenta:

**Josué Damián Hernández Bautista**

Ensenada, Baja California, México  
2023

Tesis defendida por  
**Josué Damián Hernández Bautista**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dr. Juan Pablo Lazo Corvera**  
Director de tesis

**Dr. Armando García Ortega**

**Dr. Ernesto García Mendoza**

**Dr. Misael Rosales Lejía**



---

**Dr. Roberto Cruz Flores**  
Coordinador del Posgrado en Acuicultura

---

**Dra. Ana Denise Re Araujo**  
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis en español que presenta **Josué Damián Hernández Bautista** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura

**Evaluación de la sustitución parcial y total de la harina de pescado por harina de subproducto avícola, en juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*): efecto en el crecimiento, la actividad enzimática, digestibilidad y calidad nutrimental del músculo**

Resumen aprobado por:

---

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera  
**Director de tesis**

La búsqueda de ingredientes más sostenibles y económicos para la alimentación de peces marinos es esencial. Este estudio se enfocó en reemplazar la harina de pescado (HP) con harinas derivadas de subproductos avícolas (HAve) en la dieta de juveniles de *Morone saxatilis* criados en agua de mar. Se diseñaron cinco dietas con niveles constantes de proteínas (46%) y lípidos (14%), variando gradualmente la cantidad de HP reemplazada por HAve (25%, 50%, 75% y 100%). Además, se suplementaron las dietas con DHA-Natur para equilibrar los ácidos grasos esenciales. El estudio se llevó a cabo durante siete semanas, utilizando tres grupos de 15 peces en un sistema de recirculación. Los peces se alimentaron tres veces al día a saciedad aparente. Los resultados revelaron que no hubo diferencias significativas en el crecimiento de los peces entre los diferentes tratamientos, lo que sugiere que el reemplazo de HP por HAve no afectó negativamente el crecimiento. Además, se observaron valores más altos en varias variables de respuesta (i.e., TCE, TCA, y la TEP) en los peces alimentados con el tratamiento HAve100. A pesar de que la actividad de la tripsina en el intestino de los peces alimentados con los tratamientos HAve fue menor en comparación con la dieta de control con HP, esto no afectó la digestibilidad de la dieta ni de las proteínas. Los análisis de ácidos grasos mostraron que los niveles en el músculo de los peces estaban directamente relacionados con los niveles en la dieta, excepto para los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFAs). Estos últimos no tuvieron una correlación directa, pero se observó un alto enriquecimiento de LC-PUFAs en el músculo de los peces, indicando una preferencia por almacenar estos ácidos grasos. En resumen, este estudio demuestra que las HAve son una excelente alternativa para reemplazar las HP en la dieta de la lobina rayada cultivada en agua de mar. Esto no solo reduce costos, sino que también contribuye a la sostenibilidad de la acuicultura. Estos hallazgos tienen un gran impacto en la industria acuícola y promueven prácticas más sostenibles en la cría de esta especie.

**Palabras clave:** cultivo de lobina rayada, reemplazo de harina de pescado, harina de subproducto de ave

Abstract of the thesis presented by **Josué Damián Hernández Bautista** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

**Evaluation of the partial and total fishmeal substitution with poultry by-product meal, in juvenile striped bass (*Morone saxatilis*): effect on growth, digestive enzyme activity, digestibility and muscle nutritional quality**

Abstract approved by:

---

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera  
**Thesis Director**

The quest for more sustainable and cost-effective ingredients in the feed for marine fish is of utmost importance. This study aimed to replace fishmeal (FM) with poultry byproduct meal (PBM) in the diet of juvenile *Morone saxatilis* raised in seawater. Five isoproteic and isolipidic diets were formulated, maintaining a constant protein content of 46% and lipid content of 14%, with a gradual substitution of FM by PBM (25%, 50%, 75%, and 100%). Additionally, the diets were supplemented with DHA-Natur to balance essential fatty acids. The study was conducted over seven weeks using three groups of 15 fish in a recirculation system. Fish were fed three times daily to apparent satiety. Results revealed no significant differences in fish growth among the various treatments, suggesting that the replacement of FM with PBM did not negatively affect growth. Moreover, higher values were observed in several response variables (i.e., TCE, TCA, and TEP) in fish fed the HAv100 treatment. Although trypsin activity in the fish intestine was lower in the PBM treatments compared to the control diet with FM, this did not affect diet or protein digestibility. Fatty acid analyses showed that muscle levels of fish were directly related to diet levels, except for long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs). LC-PUFAs did not exhibit a direct correlation but displayed significant enrichment in fish muscle, indicating a preference for storing these fatty acids. In summary, this study demonstrates that PBM is an excellent alternative to replace FM in the diet of striped bass cultured in seawater. This not only reduces costs but also contributes to the sustainability of aquaculture. These findings have significant implications for the aquaculture industry, promoting more sustainable practices in the cultivation of this species.

**Keywords: striped bass culture, fishmeal substitution, poultry by-product meal**

## Dedicatoria

---

A mi madre, hermano que, con su apoyo y consejos pude lograr el cometido. A mi abuela y tío que, si bien ya no están conmigo sé que siempre me acompañaron en el camino... ¡los amo una eternidad! ♥

## Agradecimientos

---

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico recibido a través de la beca de manutención para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) y en especial al Departamento de Acuicultura, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en sus instalaciones.

A Pacifico Aquaculture, por la donación de los juveniles de *Morone saxatilis*, punto de mayor importancia en esta investigación.

Al Dr. Juan Pablo Lazo, por el apoyo, la confianza y paciencia en todo momento de la investigación ¡Gracias!

A los miembros de mi comité, el Dr. Armando García Ortega, Dr. Ernesto García Mendoza y Dr. Misael Rosales Lejía, quienes aportaron sus conocimientos y consejos para llevar a cabo esta investigación.

Al Maestro Abelardo Campos que, sin su ayuda y consejos esto no habría podido llegar a su fin, gracias por estar y sufrir junto conmigo.

A mis compañeros de generación, Alejandro Vázquez, Galilea Fonseca y Mildred Montesino y Eliasid Noguera, gracias por ayudar a que esta historia fuese mejor.

A mi querida amiga Noraida Casillas, gracias por tanto apoyo y tanto amor, te quiero mucho.

A mi amada Malena Rivera, gracias por tus consejos, paciencia, amor y tiempo. ¡Te amo!

A los maestros Sergio Álvarez y Alfredo, gracias por tanta enseñanza, consejos y apareció.

A los compañeros del CESAIBC por el valioso apoyo en todo momento y circunstancias ¡gracias por todo!

A Luis Murillo, técnico de laboratorio de ecofisiología y peces marinos del posgrado de acuicultura, que igualmente dedico tiempo y conocimientos para lograr el cometido.

# Tabla de contenido

Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos .....	v
Lista de figuras .....	viii
Lista de tablas .....	ix
Capítulo 1. Introducción.....	1
Capítulo 2. Antecedentes .....	3
2.1 Lobina rayada ( <i>Morone saxatilis</i> ) .....	3
2.2 Requerimiento proteico y lipídico en peces marinos .....	4
2.3 Importancia de las harinas y aceites de pescado .....	5
2.4 Ingredientes alternativos: perspectiva sostenible en la acuicultura .....	5
2.5 Harina de subproducto avícola en la acuicultura marina .....	6
2.6 Sistema digestivo y digestión en peces .....	7
Capítulo 3. Justificación .....	9
Capítulo 4. Objetivos .....	10
4.1 Objetivo general .....	10
4.2 Objetivos específicos .....	10
4.3 Hipótesis .....	10
Capítulo 5. Metodología .....	11
5.1 Formulación de dietas.....	11
5.2 Elaboración de dietas.....	11
5.3 Condiciones de cultivo de los peces.....	12
5.4 Toma de muestras .....	13
5.5 Crecimiento .....	13
5.6 Supervivencia .....	14



5.7 TCA: Tasa de conversión alimenticia .....	14
5.8 Tasa de eficiencia Proteica (TEP) .....	14
5.9 Valor productivo de la proteína (VPP) y Valor productivo de los lípidos (VPL) .....	15
5.10 Digestibilidad aparente (%).....	15
5.11.2 Tripsina .....	17
5.11.3 Lipasas dependientes de sales biliares (LDSB) .....	17
5.11.4 Proteasas Alcalinas Totales (PAT) .....	18
5.12 Análisis de composición proximal.....	18
5.14 Análisis estadístico.....	19
Capítulo 6. Resultados .....	20
6.1 Utilización del alimento y parámetros de crecimiento.....	20
6.2 Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA%) .....	22
6.3 Actividad enzimática.....	23
6.4 Análisis químico proximal de los peces .....	24
6.5 Análisis químico proximal y perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales .....	25
6.5.1 Análisis proximal en dietas .....	25
6.5.2 Ácidos grasos en dietas .....	26
6.6 Perfil de ácidos grasos del músculo .....	27
Capítulo 7. Discusión .....	30
7.1 Desempeño en crecimiento y supervivencia .....	30
7.4 Composición proximal en músculo .....	35
7.5 Perfil de ácidos grasos en dietas y músculo.....	36
Capítulo 8. Conclusiones .....	39
Capítulo 9. Recomendaciones .....	42
Literatura citada .....	43

## Lista de figuras

---

- Figura 1.** Incremento en peso (g)  $\pm$  desviación estándar de los juveniles de *M. saxatilis*, registrado semanalmente durante el experimento. Los datos fueron comparados con una prueba de ANOVA de una vía ( $P < 0.05$ ),  $n = 15$ . .....20
- Figura 2.** Porcentaje de digestibilidad aparente de las dietas en peso seco (A), proteína (B) y lípidos (C). Los datos se compararon con una prueba de ANOVA de una vía ( $P < 0.05$ ),  $n = 15$ . H. Ave0= 100% HP, H. Ave25= 25% H. Ave, H. Ave50= 50% H. Ave, H. Ave75= 75% H. Ave, H. Ave100= 100% H. Ave. ....22
- Figura 3.** Actividad de tripsina, proteasas alcalinas totales y lipasas ( $U\ g^{-1}$  de órgano) en los ciegos pilóricos e intestino ( $n = 3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas. H. Ave0= 100% HP, H. Ave25= 25% H. Ave, H. Ave50= 50% H. Ave, H. Ave75= 75% H. Ave, H. Ave100= 100% H. Ave. .23

## Lista de tablas

---

Tabla 1. <b>Ingredientes (g kg<sup>-1</sup>) de las dietas experimentales para juveniles de <i>M. saxatilis</i>.</b> ....	12
Tabla 2. <b>Desempeño de juveniles de <i>M. saxatilis</i> alimentadas con distintas dietas a diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) en un periodo de 7 semanas.</b> ....	21
Tabla 3. <b>Composición proximal (% en peso húmedo) del músculo de los juveniles de <i>M. saxatilis</i> alimentados con las distintas dietas experimentales</b> .....	24
Tabla 4. <b>Análisis proximal (% en peso seco) de las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP)</b> .....	25
Tabla 5. <b>Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales (% de ácidos grasos identificados en dietas, n=3).</b> .....	27
Tabla 6. <b>Perfil de ácidos grasos del musculo de <i>M. saxatilis</i> alimentados con las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de la harina de pescado (mg g<sup>-1</sup> de muestra).</b> .....	28
Tabla 7. <b>Coefficientes de correlación (R<sup>2</sup>), pendientes y factores de enriquecimiento en el músculo comparado con los ácidos grasos en dieta.</b> .....	29

## Capítulo 1. Introducción

---

Se estima que para el año 2050 la población mundial superará los 9,000 millones de personas. Por lo tanto, garantizar la seguridad alimentaria de esta población es de suma importancia y representa un gran desafío en el sector alimentario (FAO, 2020). El sector pesquero es uno de los principales responsables en el abastecimiento de proteína animal en el mundo, aportando proteína de alta calidad a un mercado en constante crecimiento. El consumo *per cápita* de pescado ha aumentado de 9 kg en 1961 a 20.5 kg en 2019 anualmente Cuellar-Lugo, 2018; FAO, 2022). La producción de alimentos en este sector alcanzó más de 178 millones de toneladas en 2020, lo que equivale a un valor superior a \$406,000 millones de USD. Cerca del 90% de esta producción se destina al consumo humano, razón por lo que este sector actualmente es considerado esencial para el abastecimiento de alimentos en el mundo (FAO, 2022).

El incremento en la producción de animales acuáticos en el mundo es atribuido principalmente al desarrollo de la acuicultura, con un aporte de proteínas destinado para consumo humano mayor al 49% y cifras cercanas a los \$265,000 millones de USD que, en comparación con la pesca de captura con el 51% de producción y cifras ligeramente mayores a los 141,000 millones de USD, la acuicultura se posiciona como el arte de producción principal dentro del sector (FAO, 2022). Por su parte, México registró una producción de pescados y mariscos superior a las 400 mil toneladas en el periodo 2008-18, y generó ingresos superiores a los \$18,000 millones de MXN anuales, siendo esta actividad una de las más prometedoras económicamente en el país (Cuellar-Lugo, 2018; CONAPESCA, 2020).

Uno de los principales problemas en la acuicultura, especialmente en el cultivo de peces marinos, es el alto costo de los ingredientes utilizados como materia prima en el cultivo (i.e., harinas y aceites de pescado). Se estima que estos ingredientes pueden representar hasta el 60% del costo total de producción (Bhujel, 2002). Asimismo, la sobreexplotación del recurso marino, debido principalmente a las actividades pesqueras destinadas a la producción de harinas y aceites de pescado (cerca de 18 millones de toneladas del total de producción mundial), sumado a la escasez de la materia prima con la que se elaboran (peces pelágicos menores), han ocasionado el alza en costos de estos productos, perjudicando directamente la sostenibilidad de la acuicultura marina, la cual es dependiente a estos insumos (FAO, 2022; Cruz-Suarez *et al.*, 2000).

No obstante, encontrar ingredientes que puedan garantizar los nutrientes proporcionados por las harinas y aceites de pescado sigue siendo un gran reto en la acuicultura, especialmente cuando se buscan

alternativas nutricionales efectivas y de bajo costo para el cultivo de peces marinos (Cruz-Suárez *et al.*, 2000). Se ha demostrado que los alimentos derivados de productos de origen vegetal y animal pueden funcionar como sustitutos de lípidos y proteínas de origen marino, los cuales tienen un alto costo dentro de la acuicultura (Beal *et al.*, 2018). La sustitución de la harina y aceite de pescado con derivados de origen animal, como es la harina de subproductos avícolas (plumas, sangre y viseras de pollo) y grasas de aves, cerdo, res, así como las harinas de productos y subproductos vegetales (i.e., soya, canola, maíz, trigo), han sido algunas de las alternativas en la sustitución de harinas y aceites de pescado utilizadas en la acuicultura (NRC, 2011).

Uno de los ingredientes que ha sido objeto de estudio en los últimos años, es el derivado de productos y subproductos avícolas (i.e., harina de ave, HAVe). Se ha encontrado que este ingrediente parece ser una excelente opción para la acuicultura marina, ya que ofrece sostenibilidad, alta calidad del producto (debido a las concentraciones de proteína y lípidos totales), bajos costos (hasta tres veces menor al costo de las harinas y aceites de pescado (HP y accesibilidad en el mercado (Gaylord y Gatlin, 2000). Algunos de los estudios utilizando la HAVe, informan reemplazos que van desde el 25% hasta el 100% de sustitución, sin afectar ni comprometer significativamente el uso del alimento, el rendimiento en el crecimiento y composición muscular en *Sparus aurata*, *Seriola dorsalis* y *Totoaba macdonaldi*, *Morone saxatilis* x *Morone chrysops* (Sabbagh *et al.*, 2019). Además, se ha reportado que el contenido de ácidos grasos LC-PUFAS y aminoácidos no se ve afectado en gran medida al utilizar HAVe como reemplazo de la harina de pescado, hasta en un 50-60% (Karapanagiotidis *et al.*, 2019).

Actualmente, el cultivo lobina rayada (*M. saxatilis*) y sus híbridos es considerado de gran potencial y proyección en la acuicultura en México y Estados Unidos. Por ejemplo, en el noroeste del país (Ensenada, México) se encuentra la única empresa dedicada al cultivo de lobina rayada en agua salada, de gran importancia en el mercado nacional e internacional. Sin embargo, las investigaciones referidas a los requerimientos nutricionales de lípidos y proteínas de esta especie son escasas, y se enfocan principalmente el híbrido de lobina rayada (*M. saxatilis* x *M. chrysops*) (Blaufuss y Trushenski, 2012). Por lo que, el objetivo del presente estudio está enfocado en evaluar el aprovechamiento del alimento, a partir de la digestibilidad, actividad enzimática, composición proximal y perfil de ácidos grasos (a.g) utilizando la HAVe en reemplazo de la HP y conocer los niveles convenientes de sustitución de la HAVe que pueden ser incorporados en la dieta, sin afectar la calidad nutricional del músculo de la lobina.

## Capítulo 2. Antecedentes

---

### 2.1 Lobina rayada (*Morone saxatilis*)

La lobina rayada, *M. saxatilis*, es una especie anádroma, es decir, está presente en cuerpos de agua salada (durante gran parte de su desarrollo, hasta la reproducción) así como en cuerpos de agua dulce (principalmente durante el periodo de reproducción), y tiene alimentación omnívora (Gatlin 2002). Esta especie se encuentra de manera natural a lo largo de la costa atlántica de América del Norte, desde el norte de Florida hasta Canadá (SEMARNAT, 2019). Se ha registrado que la especie puede vivir hasta 25 años, con longitudes de hasta 150 cm y un peso de 25-35 kg. Se tiene constancia de que los machos alcanzan la madurez sexual después de los 4 años, y entre 5 a 7 años en las hembras, con desoves entre los meses de abril y junio en hábitats de agua dulce (Ende *et al.*, 2018; SEMARNAT, 2019). Hace más de 100 años, esta especie se introdujo a la costa Pacífico de California logrando establecer poblaciones naturales permanentes (SEMARNAT, 2019). Por otro lado, de acuerdo con lo establecido por la Carta Estatal Acuícola de Baja California, 2018 y la CONABIO, 2019, la pesca con fines deportivos está completamente regulada en el país.

En Baja California, México, existe la única empresa dedicada al cultivo con fines comerciales de lobina rayada, produciendo cerca de 3 mil toneladas anuales (i.e., 300 millones de pesos anuales). El cultivo de esta especie se realiza inicialmente con la crianza de alevines en tierra, seguido del proceso de engorda utilizando jaulas flotantes en mar abierto (SAGARPA, 2022). Uno de los principales problemas que limitan el cultivo de la lobina, así como en la mayoría de los peces marinos cultivados, es la producción de alimentos adecuadamente balanceados que contengan los nutrientes necesarios (lípidos, proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales) que garanticen un buen crecimiento con un adecuado funcionamiento metabólico y fisiológico de la especie (Annabelle *et al.*, 2018). Es de suma importancia llevar a cabo investigaciones que se centren en determinar los requerimientos nutricionales de las especies en cultivo, con el objetivo de lograr una acuicultura más sostenible utilizando ingredientes alternativos a la HP (Mata-Sotres *et al.*, 2018).

Sin duda alguna, desarrollar avances en el cultivo de *M. saxatilis* es de suma importancia, dado que la demanda de este pez en el mercado nacional e internacional está en constante crecimiento. Por lo tanto, ofrecer un producto de calidad con niveles óptimos de nutrientes para el consumo humano se vuelve

fundamental, especialmente si se busca alcanzar el máximo potencial en el desarrollo del cultivo de esta especie (Ende *et al.*, 2018; Mata-Sotres *et al.*, 2018). Actualmente, el cultivo de *M. saxatilis* es poco sostenible, debido a la escasez de conocimiento sobre ingredientes alternativos, al alza en precios de las harinas y aceites de pescado y la falta de investigación científica sobre los requerimientos nutricionales de la especie cultivada en agua de mar. Basándose en los avances logrados en otros peces marinos previamente estudiados, utilizar HAVe en la formulación de alimento parece ser una excelente opción para sustituir la harina de pescado en dietas para el cultivo *M. saxatilis* (SEMARNAT, 2019).

## 2.2 Requerimiento proteico y lipídico en peces marinos

Uno de los principales objetivos de la acuicultura es lograr el óptimo crecimiento y salud de los organismos bajo cultivo. Por lo tanto, contar con una proteína de calidad es de suma importancia en la nutrición acuícola (Badillo-Zapata *et al.*, 2018; NRC, 2011). Un adecuado equilibrio de aminoácidos en la dieta, especialmente los esenciales, como la lisina y la metionina, es importante para un crecimiento saludable, ya que estos aminoácidos son componentes de nueva masa muscular y participan en el desarrollo y salud de los organismos cultivados, además, los aminoácidos no solo garantizan la calidad de la proteína, sino que también mejorarán su rendimiento y, en última instancia, la rentabilidad de los cultivos (Gatlin, 2007; NRC, 2011; Badillo-Zapata *et al.*, 2018).

La importancia de los ácidos grasos en las dietas utilizadas en especies marinas radica en el cumplimiento de funciones primordiales. Estas funciones incluyen la obtención de energía básica, principalmente a través de los ácidos grasos monoinsaturados y saturados, así como el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares y los tejidos neuronales (i.e, ácidos grasos poliinsaturados). Además, los ácidos grasos desempeñan un papel crucial en la formación de diversos compuestos con amplia variedad de funciones metabólicas, como la respuesta inmune, la reproducción, la coagulación sanguínea y la regulación inflamatoria, entre otras (Cowey y Sargent, 1972; Halver y Hardy, 2002; NRC, 2011).

Por ejemplo, los ácidos grasos (a.g), particularmente los omega-3 (n-3) como el docosahexaenoico (DHA; C22:6 n-3) y el eicosapentaenoico (EPA; C20:5 n-3) juegan un papel muy importante en la nutrición de los peces (NRC, 2011). Estudios recientes señalan que estos ácidos grasos están relacionados en la conformación de la membrana celular confiriendo cambios estructurales, mejorando su permeabilidad y fluidez (Cowey y Sargent, 1972; Ernst *et al.*, 2016). Por su parte, los ácidos grasos omega-6 (n-6), como es

el ácido araquidónico (ARA; C20:4 n-6), mantienen funciones de importancia, como precursores en la producción de eicosanoides (Halver y Hardy, 2002; McKee y McKee, 2013).

### **2.3 Importancia de las harinas y aceites de pescado**

La harina de pescado como materia prima para la producción de alimento balanceado en acuicultura es muy importante ya que contiene el perfil ideal de aminoácidos esenciales (AAE) para cubrir las necesidades nutricionales de los peces (Graü de Marín *et al.*, 2007; Cabello, 2013). Del mismo modo, el aceite de pescado es un producto de importancia nutricional dentro de este sector, debido al contenido de ácidos grasos esenciales (AGE) n-3 de cadena larga, necesarios para el desarrollo fisiológico de los peces cultivados (Marín *et al.*, 2007; FEDNA, 2013).

Uno de los problemas dentro del sector acuícola es la alta demanda y limitada producción de ambos ingredientes. En los últimos años, se ha registrado una disminución en la producción pesquera a nivel mundial debido a la sobrepesca de los recursos acuáticos. Adicionalmente, solo se destina el 12-13% de la producción total de pelágicos menores (i.e., 22 millones de toneladas) para la elaboración de materia prima utilizada en este sector acuícola (i.e., harinas y aceites de pescado), ocasionando que los precios de estos productos se mantengan al alza (Tacón y Metian, 2008; FAO, 2020). Esta problemática ha ocasionado que, del costo total de operación en el cultivo de peces marinos, el alimento llegue a representar hasta un 60% (Tacón y Metian, 2008; Bush *et al.*, 2013; Knapp y Rubino, 2016).

### **2.4 Ingredientes alternativos: perspectiva sostenible en la acuicultura**

Encontrar ingredientes alternativos que puedan garantizar los nutrientes proporcionados por las harinas y aceites de pescado sigue siendo una tarea ardua en la acuicultura, especialmente cuando los requerimientos nutricionales específicos de los peces marinos son altos, en particular por los AAE y los AGE. Además, los altos costos y baja disponibilidad de los ingredientes en el mercado complican la búsqueda (Gatlin, 2007; Beal *et al.*, 2018). No obstante, se han logrado resultados positivos utilizando dietas a base de productos y subproductos de origen animal y vegetal como sustitutos de las harinas y aceites de pescado, reduciendo costos de producción y manteniendo un producto de calidad en el cultivo de especies marinas (Cruz-Suárez, 2000; Gatlin, 2007; Beal *et al.*, 2018). Las investigaciones relacionadas con la búsqueda de sustitutos de las harinas de pescado con derivados de origen animal se han centrado



principalmente en harinas de subproductos de varias especies de consumo humano, como los subproductos avícolas, como la harina de pluma, de sangre, y vísceras de pollo. Así mismo, los subproductos de la industria de res y del cerdo y también de las harinas de productos y subproductos vegetales como la harina de soya, maíz, canola, trigo, palma, entre otras, se han examinado anteriormente (Robaina, 1998; Bureau, 2006; Gatlin, 2007; NRC, 2011). Aunque, estas alternativas se plantean como posibles sustitutos de las harinas y aceites de pescado, aún presentan dificultades, especialmente en el crecimiento de los organismos debido a deficiencias en la composición de los AAE y AGE, que repercuten en el crecimiento, sistema inmune, digestión, reproducción, coagulación sanguínea y regulación inflamatoria, entre otros (Halver y Hardy, 2002; Gatlin, 2007; NRC, 2011).

## 2.5 Harina de subproducto avícola en la acuicultura marina

El crecimiento constante en la demanda de recursos para la elaboración de los alimentos utilizados en la acuicultura ha impulsado la búsqueda de sustitutos que compensen los requerimientos nutricionales de la acuicultura marina, con la intención de igualar las tasas crecimiento, conversión alimenticia y calidad del músculo de los peces (FAO, 2022). En los últimos años uno de los ingredientes más investigados en la nutrición de organismos marinos ha sido la HAVe, la cual es un subproducto derivado de la industria avícola, principalmente por su similitud en el contenido de proteínas en comparación con la HP (61-64% y 60-63% de proteína en HAVe y HP, respectivamente. (NRC, 2011; Ende *et al.*, 2018).

Los estudios utilizando la HAVe como el ingrediente proteico sustituyendo a la HP, han logrado evidenciar que se puede sustituir hasta un 100% de la HP sin afectar el rendimiento en algunas especies de peces marinos. Investigaciones como la de Zhu *et al.* (2006), Saadià *et al.* (2010), Lu Haga y Satoh, (2015) y Manríquez *et al.* (2022), trabajando con peces carnívoros como Lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*), Cobia (*Rachycentron canadum*), Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y Jurel (*Seriola dorsalis*), respectivamente, lograron sustituir hasta en un 70% la HP por la HAVe. El buen rendimiento y aprovechamiento de la HAVe como fuente proteica en dietas de peces marinos resultó en una buena retención de la proteína y los AAE.

En contraste, se han realizado estudios, como los reportados por Jalali *et al.* (2009) y Sabbagh *et al.* (2019), en especies marinas como el pez roca (*Sebastes schlegelii*) y el pargo rojo (*Lutjanus argentimaculatus*) respectivamente donde niveles altos de HAVe no resultaron tan positivos. Estos estudios evaluaron dietas con una sustitución de HP por HAVe por encima del 47% (i.e., niveles de 150 a 480 g kg<sup>-1</sup>), encontrando

que el nivel más alto afectó significativamente la tasa de crecimiento y de supervivencia de los peces. Sin embargo, concentraciones entre el 20-35%, no afectaron negativamente la tasa de crecimiento, supervivencia y retención de la proteína en el músculo (Rawles y Riche, 2006; Lu Haga y Satoh 2015; Ende *et al.*, 2018). Rawles y Riche. (2009) reportan haber evaluado el rendimiento del híbrido de la lobina (*M. chrysops* × *M. saxatilis*), especie estrechamente relacionada a la lobina rayada, con beneficios en el rendimiento y aprovechamiento de la proteína con sustituciones de la HP hasta en un 40% con la HAVe, y que sustituciones mayores generan un desbalance de AAE, como la metionina y lisina, causando un déficit de crecimiento y aprovechamiento del alimento.

## 2.6 Sistema digestivo y digestión en peces

El sistema digestivo de los peces teleósteos se compone principalmente del tubo o tracto digestivo y de glándulas anexas. Comienza en la boca y finaliza con el ano, con regiones como la cavidad bucofaríngea, esofágica, estomáca e intestinal, y cuenta con glándulas anexas al tubo digestivo, como el páncreas e hígado (Vásquez-Torres *et al.*, 2013). Generalmente, la digestión en los peces comienza en el estómago y luego continúa en el intestino. Este proceso está mediado por células especializadas (células parietales), encargadas de secretar ácido clorhídrico (HCl) generando un ambiente ácido en el estómago, indispensable en la iniciación de la digestión y desnaturalización de proteínas, facilitando la digestión en el intestino donde el medio es alcalino ( $\text{NaHCO}_3$ ) (Kobelkowsky y Figueroa, 2018). Es importante mencionar que la mayoría de los peces mantiene un patrón morfológico (formas y estructuración) y fisiológico (actividad química-enzimática) similar en su aparato digestivo (NCR, 2011). La digestión química en los peces se inicia en el estómago, donde las células parietales secretan HCl, causando un ambiente ácido, necesario para la desnaturalización de proteínas, al mismo tiempo que el zimógeno pepsinógeno se activa y convierte en pepsina (NCR, 2011; Kobelkowsky y Figueroa, 2018). Una vez que se completa la digestión ácida, el bolo alimenticio pasa al intestino, donde se secretan iones bicarbonato para elevar el pH. Este proceso es fundamental para la digestión en el intestino, ya que permite neutralizar el pH ácido tanto de los jugos gástricos como del bolo alimenticio proveniente del estómago y poder efectuar la digestión alcalina (Baker, 2009; NCR, 2011; Kobelkowsky y Figueroa, 2018).

En el intestino se continúa el proceso de digestión de los nutrientes y una mayor diversidad de enzimas digestivas a un pH alcalino, además de ser el órgano vital en la absorción de los nutrientes (Kobelkowsky y Figueroa, 2018). El proceso digestivo en el intestino depende principalmente de las enzimas secretadas por el páncreas y se complementa con las enzimas adheridas a la pared intestinal (NCR, 2011). Por ejemplo,

la digestión de los lípidos es iniciada por las lipasas carboxilo éster, que son producidas en el páncreas y son dependientes de las sales biliares, que actúan como emulsificadores, activadores y formadores de micelas, facilitando así la digestión de lípidos (Baker, 2009; Kurtovic *et al.*, 2009; NRC, 2011; Ramírez *et al.*, 2017; Ende *et al.*, 2018). Sin embargo, las enzimas digestivas más importantes en el proceso digestivo en los peces carnívoros son las proteasas, fundamentales en la hidrólisis de las proteínas (López, 2006; Ramírez *et al.*, 2017). En casi todas las especies estudiadas se ha encontrado actividad proteolítica alcalina, atribuida esencialmente a la tripsina y quimotripsina, así como a algunas metaloproteasas (aminopeptidasas y carboxipeptidasas) (Lazo, 2000). Las amilasas, son otro tipo de enzimas digestivas secretadas por el páncreas, con la función de hidrolizar los carbohidratos complejos (hidrólisis de glucógeno y almidón) en monosacáridos, nutrientes esenciales (Ramírez *et al.*, 2017). Se ha establecido que los peces marinos de cultivo, debido a sus hábitos alimenticios y ciertas divergencias evolutivas en su mecanismo de regulación, son menos capaces de utilizar los carbohidratos para satisfacer sus necesidades de energía (NRC, 2011). Por esta razón, la actividad y eficiencia de las amilasas ha sido evaluada con mayor frecuencia en el cultivo de peces herbívoros, cuya dieta se basa principalmente en materia vegetal (Baker, 2009; NRC, 2011). Uno de los retos en el desarrollo de dietas para peces marinos, consiste en identificar y caracterizar la estructura química de los nutrientes requeridos, y de proveerlos en las estructuras y proporciones adecuadas, utilizando ingredientes alternativos para que el sistema digestivo pueda digerirlos y absorberlos de forma eficiente (Lazo, 2000).

## Capítulo 3. Justificación

---

La alta demanda y poca disponibilidad, además de los altos costos de la harina y aceite de pescado utilizados como materia prima para la elaboración de alimento balanceado para peces marinos, son de las principales limitantes para la maricultura de estos organismos. Debido a la sobreexplotación de las pesquerías destinadas a la producción de harinas y aceites de pescado, este recurso se ha agotado de forma alarmante. Esta situación amenaza la sostenibilidad de la acuicultura, especialmente en lo que respecta a la maricultura de peces.

El uso de HAVe es evaluada como un ingrediente prometedor en la sustitución de la HP y aceite de pescado, ingredientes comúnmente utilizados en la acuicultura marina. La HP ofrece nutrientes de alta calidad (AAE y AGE) indispensables en el crecimiento de los peces. Los beneficios nutricionales que ofrece la HAVe, sumado a la creciente disponibilidad de este recurso en el mercado, sugieren que la HAVe puede ser incorporada en la dieta de *M. saxatilis* reemplazando totalmente la HP, sin efectos negativos en el rendimiento y calidad del cultivo.

Es importante mencionar que este pez actualmente tiene una gran demanda y valor económico nacional e internacional. Por ejemplo, una sola empresa al norte de México produce cerca de 3 mil toneladas anuales (\$300 millones de MXN), convirtiendo a esta especie de gran importancia en la acuicultura marina en México. Sin embargo, se corre el riesgo de que, con las proyecciones de crecimiento, de acuerdo con lo reportado por Pacific Aquaculture SAPI de CV (i.e., > 40,000 toneladas), el cultivo de *M. saxatilis* no sea sostenible, debido principalmente a la escasas y constante alza en precios de la HP y aceite de pescado.

Por ello, debido a que en investigaciones previas con especies marinas y terrestres se ha concluido que la HAVe es uno de los ingredientes con mayor potencial para el futuro en la acuicultura de peces carnívoros por su alto valor nutrimental, alta disponibilidad en el mercado y alta digestibilidad, el presente estudio pretende investigar la posibilidad de sustituir parcial o totalmente la proteína de la HP por la proteína brindada por la HAVe.

## Capítulo 4. Objetivos

---

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la sustitución parcial y total de la harina de pescado (HP) por harina de subproducto de ave (HAve) en la dieta de juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*)

### 4.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de sustituir la HP por HAve (25, 50, 75 y 100% de reemplazo) en dieta sobre el crecimiento, supervivencia, tasa de conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteica y el valor productivo de la proteína y de los lípidos en juveniles de *Morone saxatilis*.

Evaluar la digestibilidad del alimento con diferentes niveles (25, 50, 75 y 100%) de sustitución de la HP por la HAve en juveniles de *Morone saxatilis*.

Evaluar el efecto de sustituir (25, 50, 75 y 100%) HP por HAve en dieta sobre la actividad de las enzimas digestivas (lipasas, tripsina y proteasas totales) en el intestino y ciegos pilóricos en los juveniles de *Morone saxatilis*.

Evaluar el efecto de sustituir (25, 50, 75 y 100%) HP por HAve en dieta en la composición química proximal y perfil de ácidos grasos en dietas y músculo de juveniles de *Morone saxatilis*.

### 4.3 Hipótesis

La sustitución de hasta un 50% de la HP por HAve no tendrá efectos negativos en el crecimiento, supervivencia, digestibilidad y calidad nutrimental del filete de lobina raya cultivada en agua marina.

## Capítulo 5. Metodología

---

### 5.1 Formulación de dietas

El diseño experimental consistió en la sustitución gradual (i.e., 0%, 25%, 50%, 75% y 100%.) de 600 g/kg<sup>-1</sup> de la HP utilizando la HAve como fuente de proteína. Para esto se formularon cinco dietas (Tabla 1) isproteicas e isolipídicas con un contenido del 46% de proteína y del 14% de lípidos sustituyendo gradualmente la HP por HAve (NRC, 2011; Rueda-López *et al.*, 2011; Badillo-Zapata *et al.*, 2016). Las dietas fueron suplementadas con metionina, taurina y DHA (extracto de *Aurantiochytrium* sp.+*Schizochytrium* sp.) en proporción a la sustitución de la HP por la HAve, con la finalidad de satisfacer los requerimientos mínimos de AAE y AGE (NRC, 2011; Mata Sotres *et al.*, 2018).

### 5.2 Elaboración de dietas

Las dietas utilizadas en este estudio se elaboraron en el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y la Universidad Autónoma de Baja California, campus Ensenada, México. La elaboración se dividió en cuatro etapas: homogenización de macro y micronutrientes, peletización, secado y almacenamiento. Para la homogenización, se utilizó harina de pescado de sardina (Mazinsa, Sinaloa, México, 60 % proteína); harina de subproducto avícola (Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V, Jalisco, México, 63 % proteína), Harina de soya Soyatole (42% de concentrado Soya); gluten de maíz (INGREDION de México S.A de C.V., con 65% de concentrado), y mezcla de vitaminas y minerales (ROVIMIX de DSM); DHA-Natur (extracto de microalgas con 24% de DHA, de ADM) y aminoácidos esenciales como la metionina y la lisina. Todos los ingredientes fueron mezclados durante 20 minutos, con la ayuda de una mezcladora HOBART (marca HL200) de 20 litros de capacidad.

Para la preparación del aglutinante y el almidón de las dietas, se mezclaron entre 350 y 400 ml de agua por cada kg de dieta. Los ingredientes se activaron mediante la reacción con el agua, aplicando calor con ayuda de un microondas de uso casero, en intervalos de 2 min, hasta un total de 10 min, o hasta tener una consistencia sólida y translúcida del aglutinante, y una consistencia sólida de coloración opaca para el almidón. El proceso de peletización se llevó a cabo utilizando una mezcladora HOBART (HL200) y un dado de 2.5mm de abertura (mezcla por el dado en tres ocasiones). Las dietas fueron trasladadas a un horno

industrial marca TRUE (modelo TG1HRI89-1S), donde se mantuvieron a una temperatura de 60°C durante 24 horas. Una vez secas, las dietas se refrigeraron a -4°C hasta su posterior uso.

**Tabla 1.** Ingredientes (g kg<sup>-1</sup>) de las dietas experimentales para juveniles de *M. saxatilis*.

Ingredientes (g kg <sup>-1</sup> )	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100
Harina de pescado	600	450	300	150	0
Harina de ave	0	150	300	450	600
Harina de soya	20	20	20	20	20
Gluten de maíz	0	8	15	22	30
Aceite de Pescado	91.8	81.3	70.8	60.3	49.8
Almidón	172.2	173.5	176.0	178.3	179.7
Aglutinante (Fécula de maíz)	80	80	80	80	80
Rovimix	30	30	30	30	30
Metionina	1	1	1	1	1
Taurina	5	5	5	5	5
DHA-Natur	0	1.2	2.2	3.4	4.5
<b>Total</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

Harina de pescado: de sardina proveniente de Ensenada, B.C., México; Harina de ave: de subproducto avícola, de NARA; Harina de soya: Soyatole con 42% de concentrado Soya; Gluten de maíz: con 65% de concentrado, de INGREDION de México SA de CV; Aceite de pescado: de sardina, de Mazatlán, Sin., México; Almidón (Fécula de maíz Maizena): grado comercial con 91% de concentrado; Aglutinante: grado comercial con 85% de concentrado; Rovimix: mezcla de vitaminas y minerales, de DSM; DHA-Natur: extracto de microalgas con 24% de DHA, de ADM.

### 5.3 Condiciones de cultivo de los peces

Los juveniles de la lobina rayada fueron donados por Pacifico Aquaculture S.A.P.I. de C.V., en Ensenada, Baja California, México. Una vez en las instalaciones de CICESE, los peces fueron aclimatados en un tanque de 9000 L de capacidad, acoplado a un sistema de recirculación. Se les alimentó 3 veces al día (08:00 am, 12:00 y 16:00) con alimento para peces marinos de la marca comercial EWOS Nature-Pacific con 47% proteína y 16% lípidos. Una vez que los peces alcanzaron la talla de 7±1g, fueron trasladados a un sistema de recirculación compuesto por 15 tanques de 275 L.

El sistema está conformado por un biofiltro cabeza de burbuja (patente 5232586), un calentador Titan (HP-2) y una bomba de agua de 1 HP (BCEN200). Durante el bioensayo se mantuvieron los parámetros fisicoquímicos constantes, la temperatura de 23°C, el OD (6 mg L<sup>-1</sup>), la salinidad (33.5 UPS), el amonio (1

mg L<sup>-1</sup>) y un fotoperíodo luz: oscuridad (12:12 horas). En cada tanque se colocaron aleatoriamente 15 peces, con un total de 3 réplicas por tratamiento (225 peces totales), alimentándolos a saciedad aparente 3 veces al día (considerando una tasa de alimentación estimada del 4% del peso promedio (g<sup>-1</sup> pez) pero ajustada a saciedad. El bioensayo tuvo una duración total de 7 semanas (49 días)

## 5.4 Toma de muestras

Las biometrías durante la experimentación (i.e., semanas 2, 5 y 7) fueron realizadas pesando y midiendo cada uno de los peces en los 18 tanques. Al final del experimento todos los peces fueron sacrificados por sobredosis de aceite de clavo (Sigma-Aldrich). Para el análisis de la composición química proximal se tomaron muestras del músculo y peces enteros. Para el extracto enzimático, todos los peces fueron sacrificados 4 horas después de la alimentación (separando el intestino de los ciegos pilóricos).

## 5.5 Crecimiento

Para estimar el crecimiento de los organismos se registró de manera individual el peso en gramos de todos los peces en los tanques, con una balanza digital. El Coeficiente térmico de crecimiento (CTC) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$CTC = \frac{\text{peso final}^{1/3} - \text{peso inicial}^{1/3}}{\sum(T \times D)^3} \quad (1)$$

Dónde:

D= número de días del experimento

T= temperatura en °C



## 5.6 Supervivencia

Diariamente se registraron los organismos muertos en el experimento, y al finalizar se calculó el índice de supervivencia, con la siguiente fórmula:

$$\text{Supervivencia (\%)} = \text{nf/ni} \times 100 \quad (2)$$

Dónde:

nf= número final de organismos

ni= número inicial de organismos

## 5.7 TCA: Tasa de conversión alimenticia

La alimentación durante el experimento fue a saciedad aparente, cuidando siempre que la totalidad del alimento suministrado fuera consumido. La tasa de conversión alimenticia (TCA) fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$\text{TCA} = ((\text{alimento consumido (g)})/(\text{ganancia en peso (g)})) \quad (3)$$

## 5.8 Tasa de eficiencia Proteica (TEP)

Para conocer la tasa de eficiencia proteica (TEP), se utilizó la siguiente fórmula, con la cual se comparó el peso ganado de los organismos y la proteína consumida:

$$\text{TEP} = \text{pg/psp} \quad (4)$$

Dónde:

Psp = peso de la proteína consumida

Pg= peso ganado por los organismos

## 5.9 Valor productivo de la proteína (VPP) y Valor productivo de los lípidos (VPL)

La relación entre la ganancia de lípidos y proteínas del cuerpo y de los nutrientes ingeridos fue calculada con ayuda de las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned} & \text{VPP} \\ & = \frac{(\text{peso final} \times \text{proteína corporal final}) - (\text{peso inicial} \times \text{proteína corporal inicial})}{\text{alimento consumido} \times \% \text{ proteína en el alimento}} \end{aligned} \quad (5)$$

$$\begin{aligned} & \text{VPL} \\ & = \frac{(\text{peso final} \times \% \text{ lípidos corporales final}) - (\text{peso inicial} \times \% \text{ lípidos corporal inicial})}{\text{alimento consumido} \times \% \text{ lípidos en el alimento}} \end{aligned} \quad (6)$$

## 5.10 Digestibilidad aparente (%)

Para calcular el porcentaje de digestibilidad aparente, las heces de los peces fueron colectadas al terminar el proceso de alimentación e inmediatamente después de haber sido producidas, con la finalidad de evitar procesos de lixiviación. Cada tanque fue limpiado diariamente antes y después de cada alimentación. La colecta de las heces se realizó con ayuda de un sifón de vidrio. Las muestras de heces obtenidas fueron secadas durante 24 hrs a 60°C (IAOS, 2007), una vez esto, fueron almacenadas a -4°C, hasta su posterior análisis en laboratorio.

Para el cálculo de digestibilidad aparente se utilizó el método de cenizas insolubles en ácido clorhídrico descrito por (Montaño-Vargas et al., 2002). Para el cálculo del porcentaje de cenizas insolubles en HCL (CIA %) se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{CIA (\%)} = \frac{\text{peso de ceniza insoluble (g)}}{\text{peso de materia seca (g)}} \times 100 \quad (7)$$

Una vez calculado el CIA (%) tanto en las dietas como en las heces, se calculó el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{CDA} = 100 - \left( \frac{\text{CIA (\%)} \text{ en dieta}}{\text{CIA (\%)} \text{ en heces}} \right) \times 100 \quad (8)$$

El coeficiente de digestibilidad aparente de proteína y de lípido fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\text{DA (Py L)} = \left( 1 - \frac{F}{D} \times \frac{\text{Dcr}}{\text{Fcr}} \right) \times 100 \quad (9)$$

Donde:

F= % del nutriente en las heces

D= % nutriente en la dieta

Dcr= % de ceniza insoluble en las heces

Fcr= % de ceniza insoluble en la dieta

## 5.11 Actividad enzimática

### 5.11.1 Preparación del extracto enzimático

Para la preparación de los extractos enzimáticos se utilizó el procedimiento descrito por Fuentes-Quezada, 2018. Se registró el peso de los ciegos pilóricos e intestinos de los peces y colocados en un tubo de centrifuga de 50 ml, para ser homogeneizados con ayuda de un con un POLYTRON (PT-1200) en 15 ml de agua destilada a 4°C. Una vez obtenido el homogenizado, este se centrifugó a 16000 g durante 30 minutos a 4 °C, se recuperó el sobrenadante a -80 °C. La actividad enzimática (lipasas, tripsina y proteasas alcalinas) totales se reportó en unidades enzimáticas (U) por g de órgano.

### 5.11.2 Tripsina

Se utilizó el método descrito por Erlanger *et al.* (1961). Se utilizó buffer TRIS (50 mM con 20 mM CaCl<sub>2</sub>) y sustrato BAPNA (N $\alpha$ -benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride, Sigma B-4875) 1 mM disuelto en 500  $\mu$ L de DMSO. Se mezcló el buffer+ sustrato en una proporción de 1:7, para posteriormente incubar la mezcla a 37°C por 30 minutos. La reacción se detuvo agregando 50  $\mu$ L ácido acético al 30% y se dejó reposar durante 10 min. La absorbancia se leyó a 410nm en un espectrofotómetro Varioskan Flash Thermo Scientific. Como blanco de lectura se utilizó el sustrato con agua destilada y como control positivo enzima comercial de páncreas de cerdo (SIGMA T0303) mg ml<sup>-1</sup>.

### 5.11.3 Lipasas dependientes de sales biliares (LDSB)

La actividad de lipasas dependiente de sales biliares se evaluó utilizando el método descrito por Gjellesvik *et al.* (1992). Se utilizó buffer TRIS-HCL (0.15 mM con taurocolato de sodio a 15 mM) y como sustrato Nitrofenil miristrato (0.56 M) disuelto en 500  $\mu$ L de DMSO. La reacción se llevó a cabo manteniendo las siguientes condiciones: temperatura de incubación de 30 °C y un pH de 8.5 al inicio de la reacción. Se utilizó un espectrofotómetro (Varioskan Flash Thermo Scientific) leyendo a una longitud de onda de 480 nm, las lecturas se registraron cada minuto. Como blanco se utilizó el sustrato con agua destilada y como control positivo enzima comercial de páncreas de cerdo (SIGMA T-3126) 1mg ml<sup>-1</sup>.

#### **5.11.4 Proteasas Alcalinas Totales (PAT)**

Se utilizó el método descrito por Sarath *et al*, 2001 para evaluar la actividad de las proteasas alcalinas totales (PAT). Se utilizó un buffer TRIS-HCL al 10% (50 mM con CaCl<sub>2</sub> a 10 mM), pH 9, aforado a 50 ml de agua destilada. La Azocaseína al 2% (SIGMA Cat: A-2765) se usó como sustrato, se aforó a 50 mL con buffer Tris-HCl (50 mM, CaCl<sub>2</sub> 10 mM, pH 9). Se añadieron 150 µL de homogenizado a un tubo de 1.6 mL y 225 µL de buffer más sustrato para iniciar la reacción (en una relación 1:1.5) y se incubaron en un baño maría durante 10 minutos. Después de la incubación, se añadieron 1.12 mL de ácido tricloroacético al 10% (es decir, 10 mL por cada 100 mL de agua destilada). Las muestras fueron centrifugadas a 21,000 g a 4°C durante 5 minutos. El sobrenadante se leyó utilizando un espectrofotómetro Varioskan Flash de Thermo Scientific a una longitud de onda de 280 nm en una placa de cuarzo.

#### **5.12 Análisis de composición proximal**

Se realizó el análisis químico proximal de las dietas, heces, músculos y peces completos. Para cuantificar la proteína cruda, se utilizó el método de micro-Kjeldah, para lípidos totales se empleó el método de Soxhlet (1879), utilizando éter de petróleo. La humedad se determinó mediante la diferencia de peso entre la muestra húmeda y la muestra seca, la cual se secó a 135°C durante 2 horas. Para la evaluación de la ceniza, las muestras se incineraron durante 4 horas a 550°C, según lo establecido por la AOAC (2007).

#### **5.13 Composición de ácidos grasos**

Se realizó la cuantificación y caracterización de ácidos grasos tanto en las dietas como en las muestras de músculo de los peces. Se utilizó el método de extracción de lípidos propuesto por Folch *et al*. (1956) para la obtención de los lípidos de las muestras, pero utilizando diclorometano: metanol (2:1) como solución extractora. Posteriormente se utilizó el método propuesto por Metcalfe y Schmitz (1961) para la saponificación y metilación. Este proceso fue dividido en cuatro fases: extracción, saponificación, metilación y cromatografía. La extracción se realizó utilizando diclorometano: metanol (2:1) como solución extractora, mientras que para la saponificación y metilación se usó una solución de KOH (0.3N) y trifluoruro de boro disuelto en metanol. Para estimar el tipo y cantidad de ácidos grasos presentes en las muestras se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent 7890A GC System con una columna Agilent JyW GC de 30 metros de longitud a un flujo de 3 ml\*min<sup>-1</sup>). La rampa inicial de temperatura fue de 120°C con aumentos

de 9°C/min hasta alcanzar 190°C, y la segunda rampa fue de 190°C a 230°C cada 3 °C/min manteniéndola por 4 minutos.

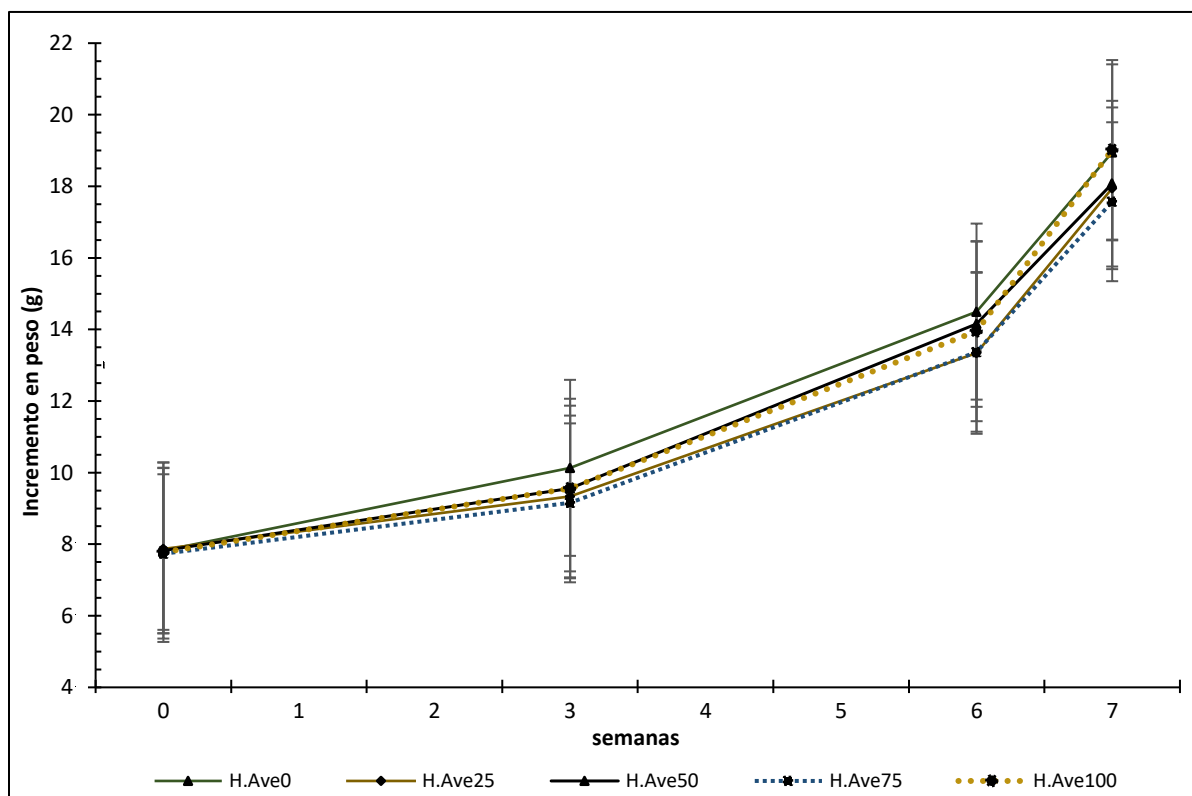
### **5.14 Análisis estadístico**

Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas fueron evaluados mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Una vez que se confirmaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para calcular y comparar las medias de las variables respuesta (crecimiento, utilización del alimento, composición química y actividad enzimática). En caso de encontrar diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó una prueba post hoc de rangos múltiples de Tukey. El nivel de significancia que se utilizó para todos los análisis fue de  $P < 0.05$ . Para llevar a cabo los análisis estadísticos, se utilizó el software IBM SPSS Statistics versión 2.1.

## Capítulo 6. Resultados

### 6.1 Utilización del alimento y parámetros de crecimiento

En la figura 1 se presenta el incremento en peso de los organismos alimentados con las dietas experimentales a través de las 7 semanas de bioensayo. Se observa un incremento en peso en cada una de las dietas, sin importar el nivel de reemplazo de la HP. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en crecimiento entre los peces alimentados con las diferentes dietas. Sin embargo, se observan valores más altos en los peces alimentados con la dieta HAve100 en las siguientes variables: crecimiento (PF) con un valor de  $19.02 \pm 0.08$ g, porcentaje de ganancia de peso (PG) con un valor de  $144.57 \pm 7.40\%$ , tasa de conversión alimenticia en la etapa de crecimiento (TCE) con un valor de  $1.60 \pm 0.05$ , tasa de conversión alimenticia en la etapa de engorde (TCC) con un valor de  $0.53 \pm 0.02$ , supervivencia (S) con un valor de  $93.33 \pm 6.67\%$ , tasa de eficiencia proteica (TEP) con un valor de  $0.71 \pm 0.01\%$ , valor proteico neto aparente (VPP) con un valor de  $0.55 \pm 0.02$  y el valor proteico neto verdadero (VPL) de  $0.12 \pm 0.02$ . (Tabla 3).



**Figura 1.** Incremento en peso (g)  $\pm$  desviación estándar de los juveniles de *M. saxatilis*, registrado semanalmente durante el experimento. Los datos fueron comparados con una prueba de ANOVA de una vía ( $P < 0.05$ ),  $n=15$ .

El consumo de alimento no se vio significativamente afectado ( $p>0.05$ ) por la sustitución de HP por la de HAve. Sin embargo, se observó que los peces alimentados con la dieta HAve0 tuvieron el mayor consumo de alimento ( $16.73\pm 1.03$ ). El índice hepatosomático (IH) no presentó diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre tratamientos. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) en el índice de condición de Fulton entre los tratamientos. La dieta HAve75 mostró el índice más bajo ( $1.03\pm 0.03$ ) en comparación con los tratamientos HAve50 ( $1.06\pm 0.06$ ), HAve100 ( $1.07\pm 0.01$ ), HAve25 ( $1.11\pm 0.01$ ) y HAve0 ( $1.148\pm 0.01$ ). (Tabla 2).

**Tabla 2.** Desempeño de juveniles de *M. saxatilis* alimentadas con distintas dietas a diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP) en un periodo de 7 semanas.

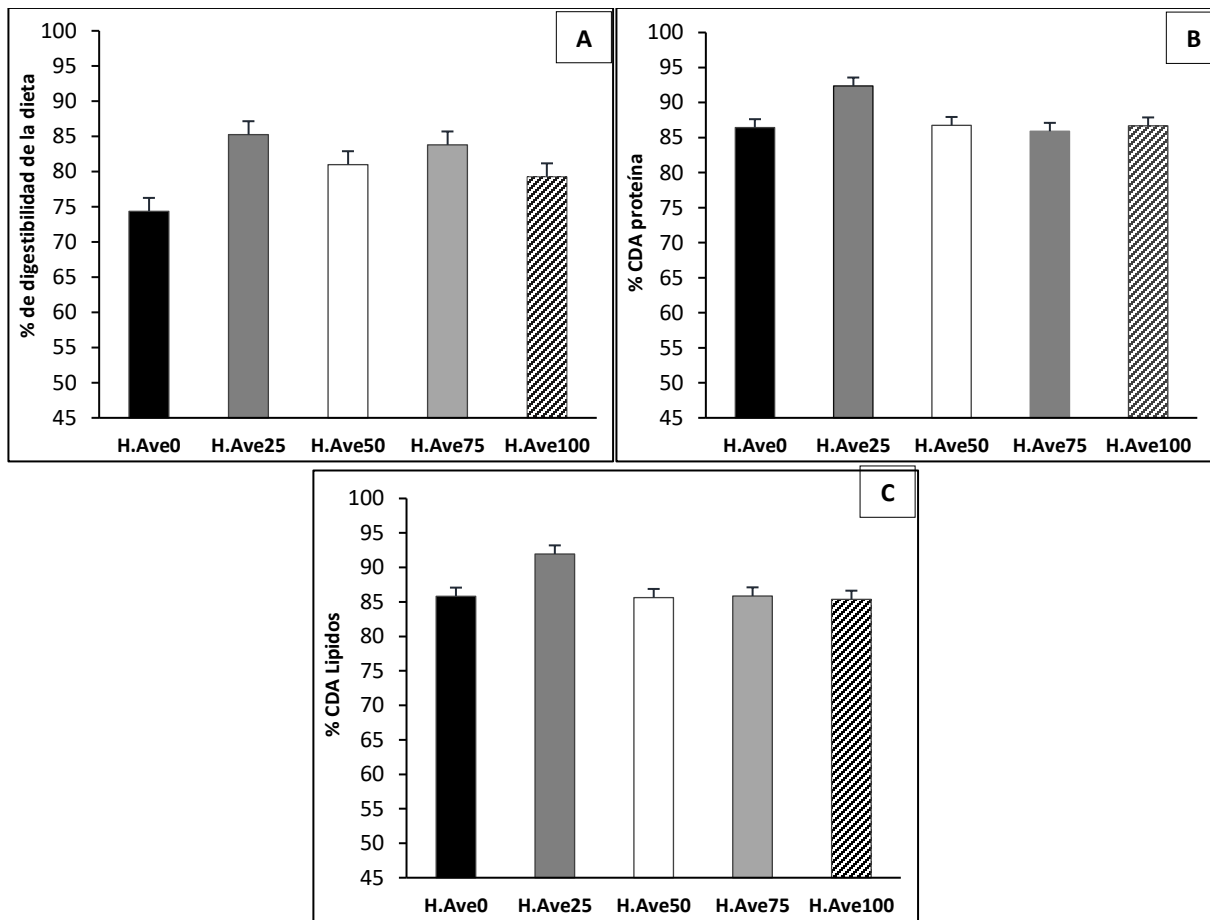
Variables respuesta	Dietas experimentales				
	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100
PI (g)	7.82 ± 0.14	7.87 ± 0.07	7.82 ± 0.10	7.73 ± 0.18	7.78 ± 0.08
PF (g)	18.95 ± 1.20	17.94 ± 1.42	18.07 ± 0.61	17.57 ± 0.68	19.02 ± 0.45
PG (%)	142.12 ± 11.44	128.17 ± 19.09	131.087 ± 7.92	127.22 ± 8.69	144.57 ± 7.40
TCE	1.58 ± 0.08	1.47 ± 0.15	1.49 ± 0.06	1.46 ± 0.07	1.60 ± 0.05
TCC	0.53 ± 0.04	0.49 ± 0.06	0.50 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.53 ± 0.02
S (%)	95.56 ± 7.70	82.22 ± 3.85	86.67 ± 11.55	80.00 ± 6.67	93.33 ± 6.67
AC (g/pez <sup>-1</sup> )	16.73 ± 1.03	16.11 ± 1.47	15.70 ± 1.21	16.63 ± 1.45	15.63 ± 0.76
TCA	1.51 ± 0.06	1.61 ± 0.18	1.54 ± 0.22	1.69 ± 0.09	1.39 ± 0.02
TEP (%)	0.66 ± 0.02	0.63 ± 0.06	0.66 ± 0.08	0.59 ± 0.03	0.71 ± 0.01
VPP	0.51 ± 0.02	0.45 ± 0.06	0.50 ± 0.03	0.46 ± 0.08	0.55 ± 0.02
VPL	0.11 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.12 ± 0.02
CDA (%)	74.34 ± 1.94	85.25 ± 4.64	80.98 ± 7.70	83.79 ± 1.02	79.26 ± 4.19
*CDA <sub>Prot</sub> (%)	86.43 ± 1.33	92.37 ± 2.39	86.75 ± 6.11	85.91 ± 9.83	86.68 ± 4.40
*CDA <sub>Lip</sub> (%)	85.81 ± 0.78	91.94 ± 3.09	85.62 ± 8.23	85.85 ± 8.49	85.36 ± 4.66
<b>Índices</b>					
K	1.148 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.03 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.07 ± 0.01 <sup>a</sup>
IH	1.82 ± 0.10	1.94 ± 0.73	1.79 ± 0.26	1.11 ± 0.11	2.10 ± 0.42

- Los valores representan medias ± desviaciones estándar de muestras por triplicado.
- Los valores de la composición química se compararon con una prueba de ANOVA de una vía ( $P<0.05$ ),  $n=15$ .
- Las letras indican las agrupaciones realizadas por medio de un análisis post hoc de Tukey ( $P<0.05$ ), la misma letra indica que no existen diferencias significativas; a>b
- HAve (Dieta Control); HAve25 (25% HAve); HAve50 (50% HAve); HAve75 (75% HAve); HAve100 (100% HAve)
- PI, Peso inicial; PF, Peso final; PG, Peso ganado, TCE; Tasa de crecimiento específica; CCT, Coeficiente térmico de crecimiento; Supervivencia, S; AC, Alimento consumido; TCA, Tasa de conversión alimenticia; TEP, Tasa de eficiencia proteica; VPP, Valor productivo de proteína; VPL, Valor productivo de lípidos; CDA, Coeficiente de digestibilidad aparente; CDAProt., Coeficiente de digestibilidad aparente de proteínas; CDALip., Coeficiente de digestibilidad aparente de lípidos; K: Factor de condición de Fulton; IH: Índice hepatosomático.



## 6.2 Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA%)

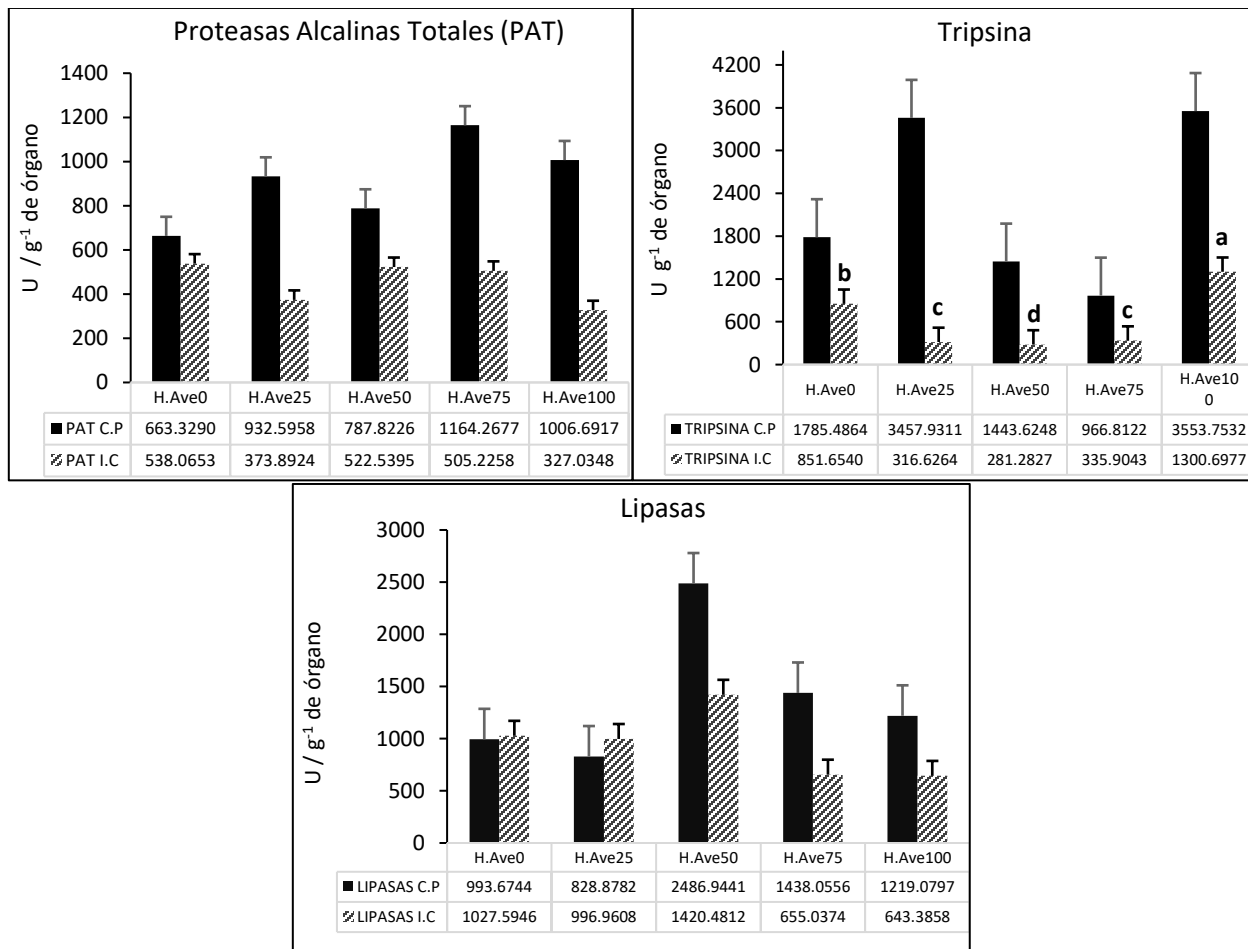
No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en los valores promedio del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) entre los tratamientos experimentales. Los valores para H.Ave0, H.Ave25, H.Ave50, H.Ave75 y H.Ave100 fueron de  $74.34 \pm 1.94\%$ ,  $85.25 \pm 4.64\%$ ,  $80.98 \pm 7.70\%$ ,  $83.79 \pm 1.02\%$  y  $79.26 \pm 4.19\%$ , respectivamente. Del mismo modo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ) en el porcentaje de digestibilidad de la proteína ( $CDA_{prot}$ ) y de los lípidos ( $CDA_{lip}$ ) entre los tratamientos. Los valores para  $CDA_{prot}$  fueron de  $86.43 \pm 1.33$ ,  $92.37 \pm 2.39$ ,  $86.75 \pm 6.11$ ,  $85.91 \pm 9.83$  y  $86.68 \pm 4.40\%$  para H.Ave0, H.Ave25, H.Ave50, H.Ave75 y H.Ave100, respectivamente, mientras que los valores para  $CDA_{lip}$  fueron de  $85.81 \pm 0.78$ ,  $91.94 \pm 3.09$ ,  $85.62 \pm 8.23$ ,  $85.85 \pm 8.49$  y  $85.36 \pm 4.66\%$  para H.Ave0, H.Ave25, H.Ave50, H.Ave75 y H.Ave100, respectivamente.



**Figura 2.** Porcentaje de digestibilidad aparente de las dietas en peso seco (A), proteína (B) y lípidos (C). Los datos se compararon con una prueba de ANOVA de una vía ( $P < 0.05$ ),  $n=15$ . H. Ave0= 100% HP, H. Ave25= 25% H. Ave, H. Ave50= 50% H. Ave, H. Ave75= 75% H. Ave, H. Ave100= 100% H. Ave.

### 6.3 Actividad enzimática

La actividad de la tripsina en los intestinos completos de los peces alimentados con las dietas de sustitución parcial se vio significativamente afectada ( $p < 0.05$ ). Los peces alimentados con la dieta HAve50 resultaron con valores de actividad enzimática significativamente menores ( $281.28 \pm 9.33 \text{ U g}^{-1}$ ). Le siguieron los tratamientos HAve25 ( $316.62 \pm 7.56 \text{ U g}^{-1}$ ) y HAve75 ( $335.90 \pm 6.66 \text{ U g}^{-1}$ ). Por otro lado, los tratamientos HAve100 y HAve0 registraron una mayor actividad enzimática de la tripsina con valores de  $1300 \pm 9.84 \text{ U g}^{-1}$  y  $851.65 \pm 5.52 \text{ U g}^{-1}$  de muestra, respectivamente. En cuanto a los ciegos pilóricos (C.P), no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los valores de actividad enzimática de la tripsina fueron de  $1785.48 \pm 6.02$ ,  $3457.93 \pm 6.02$ ,  $1443.62 \pm 3.82$ ,  $966.81 \pm 9.86$  y  $3553.75 \pm 1.35 \text{ U g}^{-1}$  para HAve0, HAve25, HAve50, HAve75 y HAve100, respectivamente.



**Figura 3.** Actividad de tripsina, proteasas alcalinas totales y lipasas ( $\text{U g}^{-1}$  de órgano) en los ciegos pilóricos e intestino ( $n = 3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas. H. Ave0= 100% HP, H. Ave25= 25% H. Ave, H. Ave50= 50% H. Ave, H. Ave75= 75% H. Ave, H. Ave100= 100% H. Ave.

La actividad de las lipasas en los ciegos pilóricos de los peces no presentó diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los tratamientos, con valores de HAve0 ( $933.67\pm 8.39$  U  $g^{-1}$ ), HAve25 ( $828.88\pm 9.72$  U  $g^{-1}$ ), HAve50 ( $2486\pm 5.77$  U  $g^{-1}$ ), HAve75 ( $1438.06\pm 6.65$  U  $g^{-1}$ ) y HAve100 ( $1219.08\pm 4.75$  U  $g^{-1}$ ) U  $g^{-1}$  de muestra. De manera similar, la actividad de las lipasas en el intestino en los peces, no mostraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ), con valores de HAve0 ( $1027\pm 8.78$ ), HAve25 ( $996.96\pm 8.87$  U  $g^{-1}$ ), HAve50 ( $1420\pm 6.65$  U  $g^{-1}$ ), HAve75 ( $665.03\pm 7.84$  U  $g^{-1}$ ) y HAve100 ( $643.38\pm 8.13$  U  $g^{-1}$ ) de muestra. La actividad de las proteasas alcalinas totales (PAT) en C.P. e intestino presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ) entre los tratamientos. Los valores para los C.P. son los siguientes:  $663.32\pm 3.35$  ,  $932.59\pm 4.04$  ,  $787.82\pm 5.16$  ,  $1164.26\pm 9.61$  y  $1006\pm 9.80$  y para Intestino completo (I.C)  $538.06\pm 9.83$  ,  $373.89\pm 8.27$  ,  $522.53\pm 3.31$  ,  $505.22\pm 7.50$  y  $327.03\pm 7.41$  U  $g^{-1}$  para HAve0, HAve25, HAve50, HAve75 y HAve100, respectivamente (Figura 3).

## 6.4 Análisis químico proximal de los peces

En el análisis químico proximal de los peces no se encontraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre los distintos componentes analizados en la musculatura de los organismos alimentados con las dietas experimentales. Sin embargo, se observó un incremento en el porcentaje de proteína en todos los tratamientos en comparación con los peces iniciales. Los valores de porcentaje de proteína para HAve0, HAve25, HAve50, HAve75 y HAve100 fueron de  $16.99\pm 1.22$ ,  $16.52\pm 0.53$ ,  $16.67\pm 0.77$ ,  $17.81\pm 1.01$  y  $18.53\pm 1.75$ , respectivamente, mientras que en los peces iniciales fue de  $15.81\pm 4.77$ .

**Tabla 3.** Composición proximal (% en peso húmedo) del músculo de los juveniles de *M. saxatilis* alimentados con las distintas dietas experimentales

	Dietas experimentales					
	Inicial	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100
Humedad (%)	$74.93\pm 0.06$	$76.79\pm 2.00$	$76.8\pm 1.28$	$76.88\pm 0.16$	$77.60\pm 0.27$	$75.58\pm 1.70$
Proteína (%)	$15.81\pm 4.77$	$16.99\pm 1.22$	$16.52\pm 0.53$	$16.67\pm 0.77$	$17.81\pm 1.01$	$18.53\pm 1.75$
Lípidos (%)	$3.75\pm 0.17$	$3.48\pm 0.73$	$3.25\pm 0.64$	$3.27\pm 0.50$	$2.96\pm 0.68$	$3.56\pm 0.32$
Cenizas (%)	$1.6\pm 0.02$	$2.20\pm 1.14$	$1.61\pm 0.38$	$1.99\pm 0.07$	$1.15\pm 0.45$	$1.81\pm 0.17$
ELN	3.91	0.59	1.82	1.19	0.48	0.52

- Los valores representan medias  $\pm$  desviaciones estándar de muestras por triplicado.
- Los valores de la composición química se compararon con una prueba de ANOVA de una vía ( $P<0.05$ ),  $n=15$ .
- HAve0= 100% HP, HAve25= 25% HAve, HAve50= 50% HAve, HAve75= 75%, HAve, HAve100= 100% HAve
- ELN: extracto libre de nitrógeno.

Por otro lado, se observó una ligera disminución en el porcentaje de lípidos en todos los tratamientos en comparación con el porcentaje de lípidos de los peces iniciales. Los valores de porcentaje de lípidos para HAve0, HAve25, HAve50, HAve75 y HAve100 fueron de  $3.48 \pm 0.73$ ,  $3.25 \pm 0.64$ ,  $3.27 \pm 0.50$ ,  $2.96 \pm 0.68$  y  $3.56 \pm 0.32$ , respectivamente, mientras que en los peces iniciales fue de  $3.75 \pm 0.17$  (Tabla 3).

## 6.5 Análisis químico proximal y perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales

### 6.5.1 Análisis proximal en dietas

Se realizó un análisis químico proximal y el perfil de ácidos grasos de cada una de las dietas experimentales (Tabla 4).

**Tabla 4.** Análisis proximal (% en peso seco) de las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado (HP).

	Dietas experimentales				
	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100
Humedad	$1.37 \pm 0.09$	$2.05 \pm 0.14$	$1.51 \pm 0.06$	$1.87 \pm 0.15$	$2.33 \pm 0.05$
Proteína	$45.93 \pm 1.07$	$46.94 \pm 1.83$	$46.96 \pm 1.18$	$47.24 \pm 1.02$	$46.09 \pm 2.34$
Lípido	$14.24 \pm 1.40$	$14.35 \pm 1.27$	$14.98 \pm 2.59$	$14.27 \pm 1.52$	$13.57 \pm 2.81$
Ceniza	$10.06 \pm 0.60$	$9.85 \pm 0.60$	$9.83 \pm 0.03$	$9.57 \pm 0.04$	$9.37 \pm 0.05$
ELN	28.4	26.81	26.72	27.05	28.64

- Los valores representan medias  $\pm$  desviaciones estándar de muestras por triplicado.
- Los valores de la composición química se compararon con una prueba de ANOVA de una vía ( $P < 0.05$ ),  $n=15$ .
- HAve0= 100% HP, HAve25= 25% HAve, HAve50= 50% HAve, HAve75= 75% HAve, HAve100= 100% HAve.
- ELN: extracto libre de nitrógeno

El porcentaje de proteína, así como el de lípidos fue similar en todas las dietas, con un promedio de 46% y 14 %, respectivamente. La cantidad de ceniza en las dietas disminuyó progresivamente al incrementar el reemplazo de HP por HAve, pasando de  $10.06 \pm 0.60\%$  en HAve0 a  $9.37 \pm 0.05\%$  en HAve100. El porcentaje de ELN no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las dietas experimentales evaluadas. Los valores estimados de ceniza disminuyeron conforme se reemplazó la HP, la dieta HAve0 resultó con el porcentaje más alto con un valor de  $10.06 \pm 0.60\%$ , seguido de HAve25, HAve50, HAve75, hasta la dieta

HAve100 con un  $9.37 \pm 0.05\%$ . Por último, los resultados obtenidos de la estimación de ELN indican que tanto las dietas HAve0 y HAve100 presentan los mayores porcentajes, con valores 28.4 y 28.64%, respectivamente, y en el caso de las dietas HAve25, HAve50 y HAve75, los valores de ELN tienen un promedio de 26.86%. El porcentaje de humedad entre las dietas fue de  $1.37 \pm 0.09\%$  para la dieta HAve0 y  $1.51 \pm 0.06\%$  para la dieta HAve50, siendo los valores más bajos de humedad, seguidas por la dieta HAve75 ( $1.87 \pm 0.15\%$ ), HAve25 ( $2.05 \pm 0.14\%$ ) y HAve100 ( $2.33 \pm 0.05\%$ ).

### 6.5.2 Ácidos grasos en dietas

En la Tabla 5 se presentan los datos sobre la composición de ácidos grasos en las diferentes dietas formuladas. Entre los ácidos grasos saturados, el C16:0 (ácido palmítico) es el más abundante en todas las dietas, con la mayor proporción en HAve0 ( $36.5 \pm 1.5\%$ ) y HAve75 ( $26.5 \pm 2.6\%$ ). Por el contrario, C12:0 (ácido láurico) tiene el contenido más bajo en todas las dietas, oscilando entre 0.1% y 0.2%. En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados, el C18:1n9 (ácido oleico) es el que predomina en todas las dietas, mostrando el mayor porcentaje en HAve75 ( $36.7 \pm 4.3\%$ ) y HAve100 ( $39.4 \pm 4.7\%$ ). El ácido graso C20:1n9 tiene una menor proporción en todas las dietas, con el contenido más alto en HAve0 ( $6.0 \pm 0.6\%$ ) y el más bajo en HAve50 y HAve100 (ambos  $1.4 \pm 0.3\%$ ).

Los AG poliinsaturados (PUFAs) se dividen en familias n6 y n3. Entre los PUFAs-n6, C18:2n6 (ácido linoleico) tiene la mayor representación en HAve75 ( $12.7 \pm 0.8\%$ ) y la más baja en HAve0 ( $2.0 \pm 0.2\%$ ). De los PUFAsn3, C18:3n6 y C18:3n3 son componentes más bajos en todas las dietas, con valores cercanos a 0%. Las sumas de cada grupo de ácidos grasos revelan que los ácidos grasos saturados y los monoinsaturados son los tipos dominantes en todas las dietas. La mayor cantidad de AG saturados se encuentra en HAve0 ( $55.8 \pm 2.0\%$ ), mientras que la mayor concentración de monoinsaturados se observa en las dietas HAve50, HAve75 y HAve100 (todos alrededor del 48-49%). La suma de PUFAs es considerablemente mayor en HAve75 ( $15.9 \pm 0.5\%$ ) y HAve100 ( $17.4 \pm 1.9\%$ ) en comparación con HAve0 ( $7.3 \pm 0.3\%$ ).

Además, la relación de ácidos grasos n3/n6 indica una mayor proporción de PUFAs n3 en relación con PUFAs n6 en todas las dietas. La mayor relación n3/n6 se encuentra en HAve0 ( $2.1 \pm 0.1$ ) y disminuye en las dietas HAve25, HAve50, HAve75 y HAve100 (todos alrededor de 0.3). En resumen, los datos de la tabla sugieren que la composición de ácidos grasos en las dietas cambia significativamente con niveles variables de ácidos grasos y con variaciones particulares en los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, que reflejan los ácidos grasos de los ingredientes utilizados en la formulación de cada una.

**Tabla 5.** Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales (% de ácidos grasos identificados en dietas, n=3).

Ácido Graso	HAVE0	HAVE25	HAVE50	HAVE75	HAVE100
C12:0	0.2±0.0	0.6±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
C14:0	10.7±0.6	7.4±1.2	3.6±1.3	3.3±0.2	2.3±0.2
C16:0	36.5±1.5	32.9±1.0	22.7±7.5	26.5±2.6	26.4±1.6
C16:1	11.3±0.4	9.7±0.3	6.5±2.2	7.3±0.7	6.8±0.4
C18:0	8.3±0.0	7.9±0.5	10.8±5.5	7.7±0.9	4.9±4.3
C18:1n9	18.8±2.8	23.7±2.3	36.7±7.3	36.2±4.3	39.4±4.7
C18:2n6	2.0±0.2	6.5±0.7	12±3.3	11.2±1.1	12.7±0.8
C18:3n6	0.1±0.1	0.1±0.0	0.0±0.2	0.1±0.1	0.1±0.0
C18:3n3	0.5±0.1	0.8±0.1	0.6±0.2	0.7±0.1	0.6±0.0
C20:1n9	6.0±0.6	4.8±0.2	2.2±0.8	2.1±0.2	1.4±0.3
C20:4n6	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.4	0.0±0.0	0.3±0.3
C20:3n3	0.0±0.1	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
C20:5n3	2.1±0.2	3.2±0.1	1.4±1.4	1.7±0.1	1.7±0.5
C22:1n9	0.5±0.6	0.3±0.0	1.2±1.4	1.4±0.1	0.8±0.1
C22:6n3	2.1±0.2	2.2±0.1	1.3±0.6	1.2±0.1	1.7±0.7
Total					
Sum.SAT	55.8±2.0	48.5±1.5	37.3±3.4	37.7±1.9	33.8±3.3
Sum.MONO	36.8±2.3	38.5±1.9	46.6±3.1	47.1±3.3	48.6±4.2
Sum.PUFAs	7.3±0.3	6.7±0.7	15.9±0.5	15.1±1.4	17.4±1.9
Sum.PUFAs.n6	2.3±0.2	6.2±0.2	12.4±2.9	11.3±1.1	13.2±1.0
Sum.PUFAs.n3	5.0±0.1	12.9±0.1	3.5±2.4	3.7±0.4	4.2±1.1
Sum.LCPUFAs.n3	4.3±0.1	5.4±0.3	2.7±2.2	2.9±0.3	3.4±1.1
n3/n6	2.1±0.1	0.9±0.1	0.3±0.3	0.3±0.0	0.3±0.1

## 6.6 Perfil de ácidos grasos del músculo

Basándonos en los datos reportados en la Tabla 6, se puede observar que el perfil de ácidos grasos del músculo de *M. saxatilis* varía significativamente con diferentes niveles de sustitución de la HP por la HAVE. Las concentraciones de los ácidos grasos se midieron en el pez inicial pero solo se reportan como referencia para una simple comparación con los peces alimentados con las dietas experimentales de manera descriptiva pero no estadísticamente.

Entre los ácidos grasos saturados (SFAs), C16:0 y C18:0 mostraron un aumento sustancial para todos los peces alimentados con las dietas experimentales en comparación con los niveles iniciales. Curiosamente, C18:0 experimentó un incremento significativo en las dietas HAVE75 y HAVE100, lo que sugiere que la

sustitución de HP podría haber influido en su acumulación. Sin embargo, C12:0 mostró una ligera variación, pero no significativa, en todas las dietas.

**Tabla 6.** Perfil de ácidos grasos del músculo de *M. saxatilis* alimentados con las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de la harina de pescado (mg g<sup>-1</sup> de muestra).

Ácido Graso	INICIAL	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100	P
C12:0	2.5±0.0	4.6±0.6 <sup>a</sup>	3.5±0.6 <sup>b</sup>	3.3±0.2 <sup>bc</sup>	2.9±0.4 <sup>bc</sup>	2.3±0.2 <sup>c</sup>	<0.05
C14:0	19.2±0.6	25.9±2.0	25.0±1.7	25.8±3.0	21.9±0.7	21.6±0.5	>0.05
C16:0	5.9±0.1	9.3±1.7	7.4±1.3	7.5±0.6	7.0±0.7	6.9±0.2	>0.05
C16:1	5.7±0.1	4.9±0.3	5.7±0.2	4.9±1.4	4.3±0.5	4.4±0.5	>0.05
C18:0	19.1±0.6	23.4±0.9 <sup>b</sup>	21.1±1.9 <sup>b</sup>	23.7±0.5 <sup>b</sup>	24.0±1.1 <sup>b</sup>	27.6±0.5 <sup>a</sup>	<0.05
C18:1n9	5.6±0.0	3.5±0.4 <sup>d</sup>	5.5±0.4 <sup>c</sup>	6.5±0.7 <sup>c</sup>	8.3±0.2 <sup>b</sup>	10.0±0.4 <sup>a</sup>	<0.05
C18:2n6	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	>0.05
C18:3n6	1.0±0.0	0.8±0.2	0.7±0.1	0.7±0.1	0.7±0.0	0.7±0.2	>0.05
C18:3n3	0.6±0.9	4.3±0.2	1.3±2.0	2.5±0.6	3.4±0.1	2.9±0.1	>0.05
C20:1n9	0.1±0.0	0.1±0.0	0.6±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	>0.05
C20:4n6	1.3±0.0	1.5±0.2	1.2±1.0	1.8±0.2	1.6±0.0	1.7±0.1	>0.05
C20:3n3	0.4±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.2	0±0.0	0.2±0.2	>0.05
C20:5n3	16.8±0.4	12.0±1.0 <sup>ba</sup>	13.1±0.2 <sup>a</sup>	13.0±0.9 <sup>a</sup>	10.7±0.1 <sup>b</sup>	8.7±0.0 <sup>c</sup>	<0.05
C22:1n9	3.0±0.1	0.3±0.6	0.8±0.2	0.7±0.1	0±0.0	0.6±0.6	>0.05
C22:6n3	17.9±1.0	16.8±1.8 <sup>a</sup>	17.5±1.3 <sup>a</sup>	10.8±3.3 <sup>b</sup>	14.3±1.3 <sup>ab</sup>	11.3±0.4 <sup>b</sup>	<0.05
Ácido Graso	INICIAL	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100	P
Sum.SAT	46.9±1.2	63.3±4.6	57.1±5.5	58.1±2.2	55.9±1.7	58.4±1.1	>0.05
Sum.MONO	14.6±0.2	8.9±0.8	12.8±0.5	12.3±1.1	12.8±0.2	15.3±1.0	>0.05
Sum.PUFAs	38.3±1.1	35.6±2.3	34.2±3.2	29.4±2.8	31.1±1.5	26.1±0.1	>0.05
Sum.PUFAs.n6	2.4±0.0	2.4±0.4	2.1±1.1	2.8±0.3	2.5±0.0	2.7±0.1	>0.05
Sum.PUFAs.n3	35.8±1.2	33.1±2.1 <sup>a</sup>	32.1±2.2 <sup>a</sup>	26.6±3.0 <sup>bc</sup>	28.5±1.5 <sup>ab</sup>	23.3±0.1 <sup>c</sup>	<0.05
Sum.LCPUFAs.n3	34.8±0.7	28.8±2.0 <sup>a</sup>	30.7±1.1 <sup>a</sup>	23.8±2.6 <sup>bc</sup>	25±1.4 <sup>b</sup>	20.1±0.4 <sup>c</sup>	<0.05
n3/n6	14.4±0.6	13.6±1.7 <sup>a</sup>	19.9±1.3 <sup>a</sup>	9.6±2.0 <sup>ab</sup>	11.1±0.6 <sup>ab</sup>	8.4±0.4 <sup>b</sup>	<0.05

- Los valores representan medias ± desviaciones estándar de muestras por triplicado.

- Los valores del contenido de ácidos grasos se compararon con una prueba de ANOVA de una vía (P<0.05), n=15.

- Las letras indican las agrupaciones realizadas por medio de un análisis post hoc de Tukey (P<0.05), la misma letra indica que no existen diferencias significativas; a>b>c>d>e

- HAve0= 100% HP, HAve25= 25% HAve, HAve50= 50% HAve, HAve75= 75% HAve, HAve100= 100% HAve.

En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs), C18:1n9, conocido como ácido oleico, mostró una notable disminución en todas las dietas, siendo la reducción más significativa en HAve100. Por el contrario, C16:1, otro MUFA, presentó un patrón inconsistente, con niveles más altos en las dietas HAve25 y HAve75, indicando posibles respuestas metabólicas a los diferentes niveles en las dietas. El análisis de

los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) reveló una tendencia intrigante. La suma de PUFAs depositados en el músculo de los peces se mantuvo relativamente estable y sin diferencias significativas, independientemente del contenido en las dietas.

Sin embargo, un examen más detallado de los AG individuales de LC-PUFAs indica que C20:5n3 y C22:6n3 en el músculo de los peces fueron afectados significativamente por los contenidos de estos en la dieta. Específicamente, C20:5n3 disminuyó significativamente, especialmente en HAve100, mientras que C22:6n3 experimentó una reducción en las dietas HAve50 y HAve100. Esto sugiere una modulación dependiente de la dieta de estos ácidos grasos esenciales, pero independientemente de los niveles del AG en la dieta los valores en el músculo aumentaron en términos relativos (Tabla 7).

**Tabla 7.** Coeficientes de correlación (R2), pendientes y factores de enriquecimiento en el músculo comparado con los ácidos grasos en dieta.

Ácido Graso	R2	Musculo/Dieta			Factor de enriquecimiento		
		Pendiente	HAve0	HAve25	HAve50	HAve75	HAve100
C14:0	0.52	0.57	2.5	3.4	5.9	6.5	9.1
C 16:0	0.60	0.1507	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3
C 18:1n9	0.92	0.2805	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3
C 18:2n6	0.41	0.004	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
C 18:3n3	0.63	-11.87	7.3	1.8	3.8	4.71	4.25
C 20:4n6	0.22	1.0476	22.4	16.3	14.4	55.6	5.5
C 20:5n3	0.36	1.7239	5.5	4.1	7.1	6.1	5.1
C22:6n3	0.26	3.9816	7.8	8.0	6.3	11.8	6.4

- Pendientes positivas (+) indican enriquecimiento del ácido graso en musculo comparado con el contenido en dieta
- Pendientes negativas (-) indican reducción del ácido graso en musculo comparado con el contenido en dieta
- Entre mayo el factor de enriquecimiento mayor concentración del ácido graso en musculo comparado con la dieta
- HAve0= 100% HP, HAve25= 25% HAve, HAve50= 50% HAve, HAve75= 75% HAve, HAve100= 100% HAve.

La relación de n3/n6 PUFAs mostró variaciones significativas entre las dietas experimentales, reflejando posibles alteraciones en la calidad nutricional de estas. HAve25 mostró la relación n3/n6 más alta, indicando un equilibrio favorable entre los ácidos grasos omega-3 y omega-6, mientras que HAve100 presentó la relación más baja, lo que sugiere una composición menos deseable de ácidos grasos, sobre todo para peces marinos carnívoros.



## Capítulo 7. Discusión

---

Actualmente, la lobina rayada (*Morone saxatilis*) se cultiva utilizando alimentos formulados para otros peces carnívoros, elaboradas con un alto porcentaje (44% al 48%) de proteína de origen marino. La dependencia de un alimento de alto contenido de proteína marina, como lo es la harina de pescado (HP), es una de las principales limitantes en la maricultura debido, sobre todo, por la alta demanda del producto, la baja disponibilidad y con ello el alto precio (Rawles *et al.*, 2022). Por ello, la identificación de ingredientes de buena calidad para sustituir a la HP es una prioridad en la maricultura sostenible (Mata-Sotres *et al.*, 2018). La harina de ave (HAve) ha sido uno de los subproductos avícolas identificado con este fin para la engorda de peces carnívoros, debido a la similitud de la calidad de la proteína (i.e., AAE) y la buena digestibilidad con respecto a la HP (NRC, 2011; Badillo *et al.*, 2014). Este es el primer estudio en evaluar el efecto de sustituir la HP con HAve (i.e., de 250 al 600 g de HAve por Kg de dieta) en dietas de la lobina rayada cultivada en agua de mar.

### 7.1 Desempeño en crecimiento y supervivencia

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al crecimiento, aun en los peces alimentados con las dietas experimentales con los niveles más altos de HAve, logrando un remplazo total de la HP por la HAve (HAve100). Estos resultados concuerdan con algunas investigaciones previas, por ejemplo, Rawles *et al.* (2022) reportaron en el híbrido de la lobina rayada (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) un crecimiento mayor en peces alimentados con dietas con un 100% de sustitución de HP por la HAve (utilizando harina de plumas de ave). Estos autores lograron la sustitución de la HP por HAve hasta en un 350 g<sup>-1</sup> Kg<sup>-1</sup> de dieta. Del mismo modo, Yu *et al.* (2020) evaluaron dietas hasta con un 340 g<sup>-1</sup> de HAve por cada Kg<sup>-1</sup> sin afectar el rendimiento en carpa cruciana de Pengze (*Carassius auratus pengze*), donde reportan reemplazos totales de la HP utilizando la HAve como base proteica principal.

En estas investigaciones, la inclusión de HAve en la dieta no tuvo efectos negativos en la supervivencia de los peces ni en el consumo de alimento, datos consistentes en la mayoría de los tratamientos utilizando la HAve como sustituto de la HP en el cultivo de la lobina europea (Saadià *et al.*, 2010,). Los valores de PF, el PG, el TCE y el CCT son ligeramente menores en los tratamientos HAve25, HAve50, HAve75, sin embargo, no mostraron diferencias significativas con los tratamientos HAve0 (Control) y HAve100. Estos resultados

son consistentes con lo reportado por Mata-Sotres *et al.*, 2018, donde sustituyeron 50% de HP por HAVe ( $480 \text{ g kg}^{-1}$ ), en totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Del mismo modo, investigando con totoaba, Badillo-Zapata *et al.* (2016), reportaron sustituciones de hasta el 67% de la HP ( $450 \text{ g kg}^{-1}$ ) utilizando la HAVe como fuente proteica, sin afectar de manera significativa los valores de las variables de respuesta biológica (PF, el PG, el TCE y el CCT). De manera similar, Sabbaghet *et al.* (2019) investigando a la dorada (*Sparus aurata*) con sustituciones de HP máximas de  $320 \text{ g kg}^{-1}$ , no encontraron diferencias significativas en el desempeño productivo, crecimiento y eficiencia alimenticia, coincidiendo con el presente estudio, puesto que el tratamiento con el 25% de sustitución de la HP por la HAVe ( $250 \text{ g kg}^{-1}$ ) no presentó deficiencias en el peso ganado, crecimiento ni supervivencia.

Ahora bien, se han observado efectos negativos en el crecimiento de peces marinos debido a deficiencias nutricionales en los alimentos que se les proporcionan aun con dietas aparentemente bien formuladas (Robaina, 1998; NRC, 2011; Pérez Velázquez *et al.*, 2019). De acuerdo con lo citado por Harrell, (1997), NRC., (2011), Badillo-Zapata *et al.*, (2016) y Mata-Sotres *et al.*, (2018), las cinco dietas fueron formuladas y elaboradas con las cantidades necesarias de proteína (48%) y lípidos (16%) estimadas para la especie *M. saxatilis*. Sin embargo, anteriormente se ha determinado que, incluso si se cumpliera con los requisitos nutricionales de la especie, es posible que, la fuente de AAE y AGE de estos ingredientes no sea la adecuada por una baja digestibilidad que puede provocar una reducción en la asimilación y síntesis de proteínas y estructuras celulares, además de afectaciones en el mantenimiento de procesos metabólicos importantes y afectaciones en el crecimiento del pez (Harrell, 1997; Tacón y Metian, 2008; Elizalde *et al.*, 2009, NRC, 2011, Mata-Sotres *et al.* 2018, Madrid *et al.*, 2019, Pérez Velázquez *et al.*, 2019).

En cuanto a los índices somáticos y de condición calculados en este experimento, el índice hepatosomático (IH) no presentó diferencias significativas entre los tratamientos experimentales. En contraste, los valores del factor de condición de Fulton (K) resultaron en diferencias significativas entre las dietas experimentales y el control. Diversos estudios reportan reducciones en los índices somáticos y de condición, regularmente relacionadas con algunas modificaciones de los alimentos, no necesariamente relacionadas con algún tipo de deficiencia nutricional o de palatabilidad (Zhang *et al.*, 2019). Diversas investigaciones, citan que los índices de condición en peces cultivados, está relacionado con el uso y ahorro de energía a partir de la temperatura del medio y la actividad natatoria del pez (López, 2006; McCann *et al.*, 2021). Por ejemplo, lo reportado por Rawles *et al.* (2006), con sustituciones mayores a  $340 \text{ g kg}^{-1}$  de la HP Por HAVe en *M. chrysops* x *M. saxatilis*, encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el índice vicerosomático (VSI), observando además diferencias en la actividad natatoria de los peces relacionada con la temperatura del cultivo (menores a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ) en comparación con la actual investigación ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

## 7.2 Utilización del alimento y digestibilidad

De manera similar a los datos de crecimiento, en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en el consumo de alimento (AC), la utilización del alimento (TCA) y la eficiencia proteica (TEP). Sin embargo, se logró observar una reducción en los valores de TCA en los tratamientos HAve25 ( $1.61 \pm 0.18$ ), HAve50 ( $1.54 \pm 0.22$ ) y HAve75 ( $1.69 \pm 0.09$ ) y aumentos en la TEP en HAve25 ( $0.63 \pm 0.06$ ), HAve50 ( $0.66 \pm 0.08$ ) y HAve75 ( $0.59 \pm 0.03$ ), en comparación con el tratamiento HAve100 y HAve0, donde se encontraron valores de TCA de  $1.39 \pm 0.02$  y  $1.51 \pm 0.06$ , respectivamente y de TEP de  $0.71 \pm 0.01$  y  $0.66 \pm 0.02$ , respectivamente. Esto sugiere una buena calidad nutrimental de la HAve para el cultivo de esta especie y probablemente para otros peces carnívoros (Wilson, 2002; Rawles *et al.*, 2009; Badillo-Zapata *et al.*, 2014; Sabbagh *et al.* 2018; Madrid *et al.*, 2019, Pérez Velázquez *et al.*, 2019). Las cuatro dietas experimentales se formularon con un contenido igual de harina de soya (~2%), gluten de maíz (~1-3%), y como principal fuente de proteína se utilizó harina de sardina (~17%) o el de subproducto avícola (~15-60%), intentando un buen balance nutricional. Se incluyó aceite de pescado (~5-9%) como la principal fuente de ácidos grasos ya que en los cultivos comerciales se utiliza una alta concentración de lípidos totales (~14-16%) y la HAve no contiene ni tantos ni de la misma calidad (ver sección de ácidos grasos). Se suplementó con AAE (i.e., metionina y taurina) para balancear el perfil de ácidos grasos según recomendación de otros estudios (Badillo-Zapata *et al.*, 2016; Mata *et al.*, 2018; Viana, *et al.*, 2019). La dieta control (HAve0) excluía en su totalidad la HAve, manteniendo el aceite de pescado (~9%) como su única fuente de AGE. Seguramente, tanto el aceite de pescado (AP) y el suplemento de la salsa comercial de pescado de anchoas, trabajaron como atrayentes en las dietas y por eso se logró un buen consumo del alimento en todas las dietas independientemente de la inclusión de la HAve.

Tanto la TCA y el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) son variables comúnmente utilizadas para determinar la calidad de una fuente proteica por medio del consumo, atractividad y eficiencia del alimento, así como la capacidad de los organismos para digerir los alimentos proporcionados. El CDA como la TCA en los tratamientos de presente estudio no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en comparación con la dieta control, indicando una buena calidad nutricional de la HAve. Esto concuerda con lo reportado por Badillo-Zapata *et al.* (2016) evaluando dietas sin aditivos organolépticos y sustituyendo la HP en concentraciones superiores a los  $450 \text{ g kg}^{-1}$  de HAve en juveniles de *T. macdonaldi*, donde los autores reportan valores similares del CDA y TCA de los tratamientos estudiados.

Existen compuestos, conocidos como factores antinutricionales, presentes en algunos alimentos que pueden afectar el valor nutricional de los alimentos, dificultando o inhibiendo la asimilación de nutrientes

indispensables (proteína, lípidos y carbohidratos) por una reducción en su digestibilidad. Estos factores antinutricionales son de naturaleza variada, pueden llegar a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos negativos (afectaciones pancreáticas, estomacales, baja asimilación de nutrientes), se encuentran principalmente en ingredientes de origen vegetal y no tanto en los ingredientes de origen animal (Elizalde *et al.*, 2009). La baja disponibilidad y desbalance de ciertos AAE y AGE, cuando se utilizan altas concentraciones de la HAVe en los alimentos, son algunos de los factores reportados como problemáticos en los estudios con peces carnívoros (Keramat *et al.* 2014; Madrid *et al.*, 2019).

Por ejemplo, Mata-Sostres *et al.* (2018), evaluando dietas con niveles superiores a 480 g kg<sup>-1</sup> de HAVe en *T. macdonaldi*, reporta un importante incremento en el aprovechamiento del alimento con solo incorporar algunos AGE libres, como los PUFAS n-3. La TEP y TCA, son índices típicamente reportados como los afectados por el desbalance de los AGE poliinsaturado en dietas. Aunque los valores de la TEP y TCA en el presente estudio mostraron cierta variabilidad entre las dietas, estas diferencias no fueron significativas ( $p > 0.05$ ) en comparación con la dieta control (Tabla 3), indicando un buen perfil nutricional de la HAVe.

Las deficiencias de AAE y otros AA en el alimento de peces cultivados, ha sido reportado como una de las principales causantes de un pobre crecimiento y baja respuesta del sistema inmune (NRC, 2011; Salze y Davis., 2015; Madrid *et al.*, 2019). En el presente estudio se realizó un balance de proteína y AA de la HAVe basadas a partir del perfil de AA y AAE reportado por Mata-Sotres *et al.* (2018) y Madrid *et al.* (2019).

De acuerdo con los requerimientos nutrimentales del híbrido de la lobina rayada (*M. chrysops* x *M. saxatilis*), especie cercana a *M. saxatilis*, las dietas fueron complementadas con metionina (0.1 g Kg<sup>-1</sup>) y taurina (0.5 g Kg<sup>-1</sup>) (Harrell, 1997; NRC, 2011; Mata-Sotres *et al.*, 2018) para cubrir posibles deficiencias en estos nutrientes. No obstante, como se desconocían los requerimientos de proteína y AAE de esta especie cultivada en agua de mar, se dificultó la elaboración de un alimento que satisfaga las necesidades de esta especie (Cruz-Suarez *et al.*, 2000).

El balance de las dietas fue realizado intentando igualar cuantitativa y cualitativamente los contenidos nutricionales de cada uno de los ingredientes utilizados (Mata-Sotres *et al.*, 2018; Madrid *et al.*, 2019). Aun así, la dieta HAVe75 (2.55 g kg<sup>-1</sup>) y HAVe100 (2.40 g kg<sup>-1</sup>) presentó valores por debajo de los requerimientos nutricionales de lisina reportados para el híbrido de la lobina (2.70 g kg<sup>-1</sup>) (Harrell, 1997; NRC, 2011 y Mata-Sotres *et al.*, 2018), sin embargo, no hubo efectos significativos en el crecimiento para esta especie cultivada en agua de mar.

### 7.3 Actividad Enzimática

Se ha observado que el uso de ingredientes alternativos a la HP y AP, aun con una calidad nutrimental similar a estos, trae consigo cambios en actividad de las enzimas digestivas de los peces alimentados con estos ingredientes (Harrell, 1997; NRC, 2011). Por lo que, en la elaboración de dietas para organismos marinos, es importante considerar el efecto negativo de las sustancias químicas inhibitorias presentes en algunos ingredientes alternativos, principalmente los ingredientes de origen vegetal, y evaluar su efecto en el funcionamiento y capacidad digestiva del pez (López, 2006; Zhang *et al.*, 2019). Sin embargo, ya que las enzimas digestivas son afectadas no solo por la mala calidad de las proteínas, sino también por los cambios de temperatura y pH en el procesamiento de estas proteínas, entre otros. Por ello, es sumamente importante determinar qué factores alcanzan a afectar la funcionalidad óptima de las enzimas digestivas en condiciones de cultivo para así seleccionar ingredientes alternativos que tengan un efecto mínimo sobre estos procesos.

Se ha hecho evidente que son pocos los ingredientes alternativos a la HP que no afecten el proceso digestivo de los organismos, y los niveles de inclusión pueden tener un efecto importante (Alarcón *et al.*, 1999; NRC, 2011; Zhang *et al.*, 2019). Por ello, si bien conocer los efectos inhibidores de las proteasas, lipasas y algunas amilasas resulta importante, conocer los niveles máximos de inclusión de los ingredientes en los alimentos utilizados también es de suma importancia (Alarcón *et al.*, 1999). Por ejemplo, las investigaciones de Sabbagh *et al.* (2019), evaluando dietas con concentraciones altas de HAVe (i.e., mayores a 250 g kg<sup>-1</sup>) en dietas para el híbrido de la lobina rayada (*M. chrysops* × *M. saxatilis*) reportan un efecto negativo en la actividad enzimática de las proteasas digestivas en las dietas con concentraciones elevadas de HAVe (>400 g kg<sup>-1</sup>). Estos estudios han puesto en manifiesto que existen variables específicas en la sensibilidad a un mismo inhibidor presentes en los ingredientes alternativos que depende de cada enzima, así como de respuestas variadas en función de la concentración total de los ingredientes en el alimento. En este mismo estudio, los autores reportan que la actividad enzimática de las lipasas era proporcional a la concentración de la HAVe en las dietas (a mayor HAVe, mayor actividad de las lipasas), similar a lo encontrado en el presente estudio para los niveles intermediarios de HAVe en la dieta (i.e., HAVe50). Por su parte, Yu-Ruihe *et al.* (2019) y Zhang *et al.* (2019) concuerdan con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde la actividad de enzimas proteasas alcalinas totales y las lipasas no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, sin importar la concentración de HAVe en la dieta. Por otro lado, lo reportado por Yu *et al.*, (2019) en dietas con concentraciones superiores a 80 g kg<sup>-1</sup> de la HAVe en *Carassius auratus*, indican que la actividad enzimática de la tripsina, lipasas y amilasas no

se vio afectada negativamente, aún en altas concentraciones de HAve en las dietas utilizadas para esa especie de pez marino.

Debido a la importancia de las proteínas en la nutrición de especies carnívoras (i.e., con un alto requerimiento por proteína), las investigaciones se han centrado en la tripsina como la enzima clave importante en la caracterización de la capacidad digestiva de los organismos (Alarcon *et al.*, 1999). Esta enzima, es una de las principales proteasas producidas por el páncreas y secretadas al lumen del intestino del pez para contribuir a la digestión alcalina de las proteínas. La enzima corta los enlaces peptídicos de la proteína en los aminoácidos arginina y lisina. Esta es clave en el proceso digestivo debido a que esta enzima activa zimógenos de otras enzimas digestivas que participan en el proceso digestivo. Por su parte las lipasas intestinales son responsables de la hidrólisis extracelular de los lípidos para liberar los AG, mono-glicerol y otros compuestos que pueden ser absorbidos por los enterocitos del lumen intestinal (NRC, 2011). La actividad de la tripsina del intestino de los peces en los diferentes tratamientos que incluyan HAve en este estudio, mostraron diferencias significativas, siendo la HAve100 la dieta que resultó en mayor actividad de esta enzima en los peces, en comparación con dieta HAve0. Estudios anteriores han mostrado la relación que existe entre la alta actividad de la tripsina con mejor crecimiento y mayor digestión de la proteína en la lobina rayada (*M. saxatilis*) y la totoaba (*T. macdonaldi*). Así mismo, se ha reportado una alta actividad de la tripsina, como indicador del estatus nutricional y sobrevivencia de los peces bajo condiciones de cultivo (Baragi y Novell, 1986; Fuentes-Quesada *et al.*, 2018).

#### **7.4 Composición proximal en músculo**

No se encontraron diferencias significativas en la composición proximal en el músculo de los peces alimentados con las diferentes dietas. Estos resultados son de esperarse debido a la buena calidad de la proteína de HAve (i.e., perfil de AAE y alta digestibilidad) y que las dietas formuladas eran isoproteicas. En estudios previos con la especie híbrida de la lobina rayada (*M. chrysops* x *M. saxatilis*), la totoaba (*T. macdonaldi*) y el jurel cola amarilla de california (*S. dorsalis*) se ha reportado que el contenido de proteína muscular no cambió entre los tratamientos aún con dietas con diferentes contenidos de la HAve (i.e., 210 g kg<sup>-1</sup> a 440 g kg<sup>-1</sup>). En contraste, investigaciones como la realizada por Badillo Zapata *et al.* (2016) y McCann *et al.* (2021), evaluando dietas con HAve del 25 al 44% (160-440 g kg<sup>-1</sup>), reportan diferencias significativas en el contenido de proteína muscular de los peces alimentados con la HAve por encima de 250 g kg<sup>-1</sup> en la dieta. En estas investigaciones, reportan menores valores en la digestibilidad de las dietas al incrementar la HAve, lo cual ayuda a explicar los resultados obtenidos.

De manera similar, no se encontraron diferencias significativas en el contenido lipídico en el músculo de *M. saxatilis* en el presente estudio. Igualmente, estos valores eran de esperarse debido a que la principal fuente lipídica era el aceite de pescado y todas las dietas eran isolipídicas (14% de lípidos). Así mismo, investigaciones como la de Sabbagh *et al.* (2019) y McCann *et al.* (2021), en la dorada (*Sparus aurata*) y el híbrido de la lobina (*M. chrysops* × *M. saxatilis*), respectivamente, no encontraron diferencias significativas en la concentración de lípidos totales en el músculo de los peces, aun en los tratamientos con sustituciones totales de la HP por la HAve (i.e., 190-250 g kg<sup>-1</sup>). En contraste, investigaciones como la de Badillo-Zapata *et al.*, (2014) y Manríquez *et al.* (2020), observaron cambios significativos en la composición proximal corporal de *T. macdonaldi* y el jurel de Castilla, con sustituciones de la HP por la HAve, de 210 y de 440 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Estas investigaciones explican que las altas concentraciones de AG saturados y monoinsaturados, así como las bajas concentraciones de AAE pudieron afectar la digestión de los lípidos en las dietas intermedias, resultando en contenidos inconsistentes de lípidos en el músculo de *M. saxatilis*.

## 7.5 Perfil de ácidos grasos en dietas y músculo

Por lo general, el perfil de ácidos grasos en dieta refleja la fuente de lípidos en la formulación de estas. En el presente estudio, conforme aumentó la concentración de HAve en la dieta, aumentaron el C18:1n9 y el C18:2n6, los dos principales ácidos grasos en la HAve (NRC, 2011). En contraste, conforme aumento la cantidad de HAve y disminuyo la HP y el AP en dieta, disminuyeron las concertaciones de los LC-PUFAs, como el C20:4n6 (ARA), C20:5n3 (EPA) y C22:6n3 (DHA). Sin embargo, la reducción de DHA en las dietas no fue tan significativa ya que se agregó DHA-Natur conforme se aumentó los niveles de HAve en dieta para nivelar las cantidades de este ácido graso esencial tan esencial y deficiente en la HAve (Badillo-Zapata *et al.*, 2014).

Está bien establecido que el perfil de ácidos grasos en la dieta tiene un efecto directamente proporcional en el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces, sobre todo para los ácidos grasos no esenciales (Lazo *et al.*, 2020). En el presente estudio, los niveles de varios ácidos grasos saturados (C140 y C16:0) y monoinsaturados (C18:1 n9) tienen una correlación directa entre los niveles en la dieta y las concentraciones encontradas en el músculo. Deficiencias de estos AG saturados y monoinsaturados en dieta, junto con la baja digestibilidad de los lípidos, resulta por lo general en un bajo crecimiento del pez, ya que al no tener suficiente sustrato para la beta-oxidación de los lípidos, la proteína es utilizada como la principal fuente energética, reduciendo la formación de nuevo tejido muscular y por lo tanto el crecimiento (NRC, 2011).

En contraste, los AGE (LC-PUFAs), aunque con una cierta correlación directa entre dieta y músculo, tuvieron un factor de enriquecimiento alto (Tabla 8), indicando que los peces presentaron una preferencia por almacenar estos ácidos grasos en el músculo, aun cuando estuvieran en concentraciones relativamente bajas en las dietas. Aunque se encontraron diferencias significativas en el contenido de DHA y EPA en el músculo al finalizar el experimento, con menores cantidades conforme aumentó la concentración de HAVe en dieta, no se vieron efectos negativos en el crecimiento y supervivencia de los organismos. Lo que sugiere que las cantidades de DHA y EPA en todas las dietas era suficiente para cumplir con los requerimientos de LC-PUFA en esta especie.

De manera similar, Mata Sostres *et al.* (2018) y Viana *et al.* (2020), realizaron estudios evaluando el efecto de suplementar DHA a las dietas formuladas con HAVe y sebo de res en sustitución del AP en juveniles de lobina rayada y totoaba para balancear el perfil de LC-PUFAs en las dietas. Estos autores reportaron un aumento en los niveles de DHA en las dietas al incluir el suplemento, resultando en un buen crecimiento y salud de los peces, sin la necesidad de usar HP y AP en las dietas. Con base en estos resultados, las dietas del presente estudio fueron enriquecidas con DHA-natur (extracto de *Aurantiochytrium* sp) de manera proporcional a la inclusión de la HAVe en las dietas (NRC, 2011; Badillo-Zapata *et al.*, 2014; Mata-Sotres *et al.*, 2018; Viana *et al.*, 2020). Igualmente, a lo reportado anteriormente, la inclusión del extracto de DHA, logró concentraciones en dieta relativamente satisfactorias, sin importar los niveles de inclusión de la HAVe. Cabe destacar que, en el presente estudio, los niveles de reemplazo del HP por la HAVe fueron mayores a las investigaciones anteriores (i.e., aquí se logró hasta un 100%) sin observar efectos negativos en el desempeño de los peces.

Por otro lado, la concentración del EPA en el músculo disminuyó conforme aumentó la inclusión de la HAVe, donde los tratamientos HAVe75 y HAVe100 resultaron en los valores más bajos. Esta baja concentración de EPA y el contenido de DHA en las dietas, resultó en la relación DHA: EPA relativamente constante en la dieta y en los peces. En estudios anteriores, Kanzawa, (2000) y Watanabe *et al.*, (1989) comparando la esencialidad relativa del DHA y el EPA en peces marinos, alimentaron a juveniles de lenguado japonés (*P. olivaceus*) y *Pargo major* con dietas que contenían cantidades suficientes de EPA o DHA. Los autores reportan un crecimiento menor en las dietas ricas en EPA en comparación con los tratamientos con DHA en las dietas, resultando en un mayor crecimiento en los peces. En todos los tratamientos evaluados, el crecimiento, sobrevivencia y vitalidad fueron mejorados en los peces alimentados con dietas ricas en DHA (Watanabe *et al.*, 1989; Viana *et al.*, 2020).



Los resultados obtenidos en el presente experimento con respecto al crecimiento fueron mejores de lo esperado. Se logró sustituir 100% la HP por la HAve, sin afectar el crecimiento y supervivencia. Sin embargo, es importante detectar y resaltar las ventajas/desventajas que estos ingredientes alternativos poseen para proponer medidas correctivas. Es difícil atribuir afectaciones por parte de un solo ingrediente en este tipo de experimentos con un único factor, sin embargo, fue evidente al inicio del periodo de aclimatación y experimentación el rechazo inicial a las dietas experimentales, por lo que se tuvo que agregar un atrayente (i.e. salsa de pescado roseada sobre el pellet) a las dietas para poder hacer la transición a las nuevas dietas. Hoy en día existen ciertas alternativas para minimizar el efecto de este y otros factores en la elaboración y uso de dietas con ingredientes alternativos, tales como procesos de gelificación, extrusión o el uso de atractantes, los cuales permitan reducir la baja palatabilidad aumentando la atractabilidad de los alimentos. Seguir indagando en el mejoramiento de alimentos a base de HAve necesita de mayor esfuerzo de investigación, sobre todo cuando, al parecer, este ingrediente es una buena alternativa como una de las proteínas del futuro en la acuicultura (Jaime-Ceballos *et al.*, 2007).

En conclusión, el crecimiento de los peces alimentados con todas las dietas, sin importar el nivel de inclusión de la HAve fue apropiada. Se logró sustituir a la HP en su totalidad por HAve en dieta en juveniles de lobina rayada cultivada en agua de mar sin afectar negativamente el crecimiento, supervivencia y la utilización del alimento. Así mismo, se observó que la digestibilidad de la dieta, proteínas y lípidos en todas las dietas fue comparable e independiente de la concentración de la HAve en dieta. Adicionalmente, se observaron buenas TCA, PER y PPL, similares e inclusive superiores a la dieta control, la cual tenía mayor cantidad de HP. El uso de DHA-natur como suplemento para compensar la deficiencia de LC-PUFAS en la HAve como ingrediente alternativo resultó en cantidad aceptables en la dieta, reflejado en el crecimiento y supervivencia de los peces alimentados con dietas con un alto reemplazo de HP por HAve. Sin embargo, la concentración de DHA en el tejido de los peces alimentados con HAve en altas concentraciones en las dietas resultó ser inferior a la dieta control, algo no deseada para el consumo humano de esta especie cultivada, por lo que se debe estudiar maneras de mejorar el perfil de LC-PUFAS n-3 en el producto final. Por lo tanto, en el presente estudio se logró identificar algunas desventajas del uso de HAve como sustituto de HP en las dietas para cultivo de juveniles de *M. saxatilis* en agua de mar. La deficiencia de algunos LC-PUFAS, así como el tipo de lípidos totales en HAve son, algunos de las limitantes para su uso en dietas para lobina rayada. Sin embargo, estas limitaciones pueden ser corregidas, dando pauta para realizar investigaciones futuras que puedan llevar la acuicultura de peces marinos a desarrollarse de manera sostenible, por medio de la búsqueda de ingredientes alternativos que puedan disminuir o eliminar el uso de la HP.

## Capítulo 8. Conclusiones

---

El crecimiento y supervivencia de los peces alimentados con dietas con alto contenido de la HAve no resultó en efectos negativos en el crecimiento, supervivencia y utilización del alimento comparados con la dieta control (con HP sin HAve). El resultado más relevante del presente estudio es que se logró sustituir al 100% la HP por la HAve en dieta para juveniles de lobina rayada cultivadas en agua del mar a 21°C.

No se encontraron diferencias significativas en la digestibilidad aparente de la materia seca, proteína o lípidos en las dietas que incluían HAve en comparación con la dieta control con HP.

La actividad de las proteasas y lipasas obtenidas en los intestinos y ciegos pilóricos, de manera general, confirman la buena capacidad digestiva de las lobinas rayadas para digerir las proteínas y los lípidos, evidenciada por los valores de digestibilidad aparente observados. Sin embargo, por lo general, la actividad de la tripsina en el intestino de los peces alimentados con HAve, resultaron con una actividad menor en comparación con la dieta control, sin que este factor afectara la digestibilidad de la dieta o de las proteínas.

Compensar la deficiencia de LC-PUFASn-3 (i.e., DHA) en la HAve con el uso de DHA-Natur como suplemento resultó en cantidad aceptables de estos AGE en la dieta, lo cual se vio reflejado en el crecimiento y supervivencia de los peces alimentados con dietas con un alto reemplazo de HP por HAve.

Otra de los limitantes del uso HAve como ingrediente es el menor nivel ácidos grasos saturados que puedan ser utilizados como fuente energética en la B-oxidación. Sin embargo, el mayor contenido de ácido oleico (C18:1 n-9) aparentemente compensa esta deficiencia y los peces crecen satisfactoriamente.

La HAve es un excelente ingrediente alternativo para sustituir la HP en dieta para la lobina rayada cultivada en agua de mar, lo que abre las puertas para lograr contribuir en una acuicultura más sostenible de esta especie.

## Capítulo 9. Recomendaciones

---

Inicialmente, conocer tanto la biología, ecología y bioquímica de los organismos que se investigará, esto con la finalidad de que los requerimientos nutricionales demandados por el animal sean cubiertos adecuadamente con los alimentos suministrados mientras se encuentran en cautiverio.

Indistintamente, conocer la composición proximal, perfil de a.a y a.g de cada ingrediente antes de la elaboración de dietas, y con ello diseñar dietas que cumplan con los requerimientos óptimos de la especie con la que desee investigar.

Realizar pruebas organolépticas de las dietas (dureza, color, sabor y textura), lo cual permitiría evaluar la influencia de estos factores sobre la aceptabilidad de estas.

## Literatura citada

---

- Alarcón, F. J., Moyano, F. J. y Diaz, M. (1999). Effect of inhibitors present on protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparus aurata*). *Aquat Living Resources*. (12):233-238
- Annabelle, T., Karine, R., Marie-Dominique, B., Karine, G., & Stéphane, D. (2018). Pre-and post-prandial expression of genes involved in lipid metabolism at the end of the overfeeding period of mule ducks. *Molecular and cellular biochemistry*, 438(1-2): 111-121.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists).2005. *Official Methods of Analysis*, (18th ed.), AOAC, Gaithersburg, MD, USA.
- Badillo, D., Lazo, J., Herzka, S. & Viana, M. (2016). The effect of substituting fishmeal with poultry by-product meal in diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles. Consultado de <https://doi.org/10.1111/are.12636>
- Badillo-Zapata, D., De-Jesus-Zaragoza, F., Vega-Villasante, F., López-Huerta, J., Herrera-Reséndiz, S., Cueto-Cortes, L., Guerrero-Galván, S. R. (2018). Protein and lipid requirements for growth of juveniles of the native fish *Dormitator latifrons* (Richardson, 1844). *Ecosist. Recur. Agropec*, 5(14):345-351.
- Baker, D. H. (2009). Advances in protein-amino acid nutrition of poultry. *Amino Acids*, (37):29-41. <https://doi.org/10.1080/10641260802031322>.
- Baragi, V., y Lovell, R. T. (1986). Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. *Transactions of the American Fisheries Society*. 115(3): 478-484.
- Beal, M.C., Gerber, N.L., Thongrod, S., Phromkunthong, Kiron, V., Granados, J., Archibald, I. Greene, H.C., Huntley M.E. 2018. Marine microalgae comercial production improves sustainability of global fisheries and aquaculture. *Scientific Reports*. (8) 1-8.
- Bhujel, R. C. (2002). Manejo alimentario para tilapia. *Panorama acuícola*, 7(4), 6.
- Blaufuss, P., & Trushenski, J. (2012). Exploring soy-derived alternatives to fish meal: using soy protein concentrate and soy protein isolate in hybrid striped bass feeds. *North American Journal of Aquaculture*, 74(1), 8-19.
- Bureau P., D., Encarnação, P. M. (2006). Adequately Defining the Amino Acid Requirements of Fish: The Case Example of Lysine. *Simp. Int. Nutr. Acuícola; Av. En Nutr. Acuícola*, (8):29-54.
- Bush, S. R., Belton, B., Hall, D., Vandergeest, P., Murray, F. J., Ponte, S., Kusumawat, R. (2013). ¿Certify Sustainable Aquaculture? *Science*, (341):1067-1068.
- Cabello, A., García, A., Figuera, B., Higuera, Y., y Vallenilla, O. (2013). Physical and chemical quality of the Venezuelan fish meal. *Saber*, 25(4): 414-422. [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-01622013000400009&script=sci\\_abstract&tIng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-01622013000400009&script=sci_abstract&tIng=en)
- CONAPESCA. (2020). Programa Nacional de Pesca y Acuicultura. Obtenido de Diario Oficial de la Federación: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5609194&fecha=30/12/2020](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5609194&fecha=30/12/2020)
- Cowey, C. B., Sargent, J. R. (1972). Fish Nutrition. *Adv. mar. Biol.*, (10):383-492.

- Cuéllar-Lugo, M. B., Asiain-Hoyos, A., Juárez-Sánchez, J. P., Reta-Mendiola, J. L., & Gallardo-López, F. (2018). Evolución normativa e institucional de la acuicultura en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 15(4), 541-564.
- Elizalde A. D. D., Pismag Portilla, Y. A. y Chaparro D. C. (2009). Factores antinutricionales en semillas. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 7(1), 45-54. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a07.pdf>
- Ernst, R., Ejsing, C. S., Anthony, B. (2016). Homeoviscous adaptation and the regulation of Membrane Lipids. *J. Mol. Biol.*, 428(24): 4776-4791.
- FAO (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. La sostenibilidad en acción. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229es>
- FAO (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Hacia la transformación azul: [https://mexico.un.org/sites/default/files/2022-06/cc0463es\\_0.pdf](https://mexico.un.org/sites/default/files/2022-06/cc0463es_0.pdf)
- Folch, J., Lees, M., Sloane, G.H. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. (226) 497.
- Fuentes-Quesada, J. P. 2018. Optimization of alternative ingredients in low fishmeal diets using functional nutrients in *Totoaba macdonaldi* juveniles. Centro de Investigación Científica de Estudios Superiores de Ensenada Baja California. Tesis de doctorado. 152 pp.
- Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. (2013). FEDNA. [http://www.fundacionfedna.org/ingredientes\\_para\\_piensos/harina-de-pescado-70913](http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/harina-de-pescado-70913)
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquac. Res.* 38, 551–579.
- Gaylord, T. G., & Gatlin Iii, D. M. (2000). Dietary lipid level but not l-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Aquaculture* 190(3-4), 237-246.
- Graü de Marín, C., Marval, H., y Zerpa de Marcano, A. (2007). Utilización de la harina de pescado en la formulación de alimentos para crecimiento y engorde animal. *Elaboración de productos agrícolas*. INIA Divulga, 10.
- Halver, J. E., & Hardy, R. W. (2002). Fish Nutrition. En *Aminoacid and proteins; the lipids* (pág. 500). USA: Elsevier Science.
- Harrell, R. M. (Ed.). (1997). *Striped bass and other Morone culture*. Elsevier.
- Hernández, J. M. (2019). Estimación del perfil de aminoácidos óptimo para el mayor crecimiento y eficiencia alimenticia en juveniles de *Totoaba (Totoaba macdonaldi)*. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Científica y Estudios Superiores de Ensenada, Baja California, 2019. 61 pp.
- International Aquaculture Feed Formulation Database. (2021). IAFFD. <https://app.iaffd.com/>
- Jaime-Ceballos, B., Civera, R.C., Villarreal, H., Galindo, J.L., Pérez-Jar, L. (2007). Use of *Spirulina platensis* meal as feed attractant in diets for shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Hidrobiológica*. 17(2): 113-117.

- Jalali, A. M., Ahmadifar, E., Sudagar, M., Takami, G. A. (2009). Growth efficiency, body composition, survival, and haematological changes in great sturgeon (*Huso Linnaeus, 1758*) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquaculture research*, (40): 804-809. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02166.x.
- Kanazawa, A. (1998). Nutrición de larvas de peces. *Avances en Nutrición acuícola*. [https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/IV/archivos/5kanaza.pdf](https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/IV/archivos/5kanaza.pdf)
- Karapanagiotidis, I.T., Daskalopoulou, E., Vogiatzis, I., Rumbos, C., Mente, E., Athanassiou, C.G. 2014. Substitution of fishmeal by fly *Hermetia illucens* prepupae meal in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Proceedings of the HydroMedit*, 110-114.
- Keramat, A.A., Shahsavary, M., y Hedayatifard, M. (2014). Full Replacement of Fishmeal by Poultry by-product Meal in *Rainbow Trout, Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972) Diet. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 13. 1069-1081.10.22092/IJFS.2018.114416.
- Knapp, G., Rubino C., M. (2016). The Political Economics of Marine Aquaculture in the United States. *Fisheries Science & Aquaculture* 2(4):213-224. DOI: <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1121202>.
- Kobelkowsky, A., Figueroa-Lucero, G. (2018). Anatomy of the digestive system of Shortfin Silverside *Chirostoma humboldtianum* (Teleostei: Atherinopsidae). *Hidrobiológica*, (28): 37-50.
- Kurtovic, I., Susan, N. M., Zhao, X., Simpson, B. K. (2009). Lipases from Mammals and Fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 17(1):18-24. <https://www.tandfonline.com/loi/brfs20>
- López, F. J. M. (2006). Bioquímica digestiva en especies acuicultivadas: aplicaciones en nutrición. *Avances en Nutrición Acuícola*. [https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/VIII/archivos/24Moyano.pdf](https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VIII/archivos/24Moyano.pdf)
- Lu, F., Haga, Y., & Satoh, S. (2015). Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*, (81): 95-105.
- Manríquez Patiño, A. Z. (2020) Dietas libres de harina y aceite de pescado. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California.
- Mata-Sotres, J. A., Tinajero-Chavez, A., Barreto-Curiel, F., Pares-Sierra, G., Del Rio-Zaragosa, O. B., Viana, M. T., & Rombenso, A. N. (2018). DHA (22:6n-3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oil-free feeds containing poultry by-product meal and beef tallow. *Aquaculture* (497): 440-451. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.015.
- McCann, K. M., Rawles, S. D., Lochmann, R. T., McEntire, M. E., Sealey, W. M., Gaylord, T. G., & Webster, C. D. (2021). Dietary replacement of fishmeal with commercial protein blends designed for aquafeeds in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*): Digestibility, growth, body composition, and nutrient retention. *Aquaculture Reports* 21, 100903.
- McKee, T., McKee, J. R. (2013). Capítulo 5: Aminoácidos, péptidos y proteínas; Capítulo 11: lípidos y membranas. En T. McKee, & J. R. McKee, bioquímica. Las bases moleculares de la vida 5ta edición (pp. 109-159; 371-409). Ciudad de México: McGraw Hill.

- Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A. (1961). The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33(3), 363-364.
- NCR. (2011). *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp* Board on Agriculture and Natural Resources Division on Earth and Life Studies. Washington, D.C.: National Research Council.
- Perez-Velazquez, M., Gatlin III, D. M., González-Félix, M. L., García-Ortega, A., de Cruz, C. R., Juárez-Gómez, M. L., & Chen, K. (2019). Effect of fishmeal and fish oil replacement by algal meals on biological performance and fatty acid profile of *hybrid striped bass* (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 507, 83-90.
- Ramírez F. J., Álvarez-González C. A., Nolasco-Soria H. G, Peña, Martínez-García R., Camarillo-Coop, K. S Conway y C. Pohlenz. (2017). Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (*Centropomus parallelus*). *Hidrobiológica* 27(3): 419-427. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v27n3/0188-8897-hbio-27-03-419.pdf>
- Rawles, S. D., Gaylord, T. G., McEntire, M. E., & Freeman, D. W. (2009). Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*), in pond production. *Journal of the World Aquaculture Society* 40(2), 141-156.
- Rawles, S. D., Riche, M., Gaylord, T. G., Webb, J., Freeman, D. W., & Davis, M. (2006). Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) in recirculated tank production. *Aquaculture*. 259(1-4): 377–389. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.05.053
- Robaina Robaina, L. E. (1998). Nutritional use of alternative protein sources to fish meal for gilthead seabream (*Sparus aurata*) on-growing diets. *Informes Tecnicos-Instituto Canario de Ciencias Marinas* (España).
- Rueda-López, S., Lazo, J.P., Correa G.R., Viana M.T. (2011). Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture* 319 (3-4). 385-390.
- Sabbagh, M., Schiavone, R., Brizzi, G., Sicuro, B., Zilli, L., & Vilella, S. (2019). Poultry by-product meal as an alternative to fish meal in the juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) diet. *Aquaculture*.
- Salze, G. P., & Davis, D. A. (2015). Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture*, 437, 215-229.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2022). Cultivo de Lobina (*Morone saxatilis*): <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/programas-de-la-secretaria-de-agricultura-y-desarrollo-rural-2022>
- Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, (2019). Carta Nacional Acuícola: [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5668529](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5668529)
- Suárez, L. E. C., Marie, D. R., López, M. N., y Salazar, M. T. (2000). Revisión sobre calidad de harinas y aceites de pescado para la nutrición de camarón. *Avances en Nutrición Acuícola*.
- Tacon J., A. G., Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* (285): 146–158.

- Vázquez-Torres, W., Yossa-Perdomo, M. I., Hernández-Arévalo, G., Gutiérrez-Espinosa, M. C. (2013). Apparent digestibility of feed ingredients of common use in the balanced diets for tilapia red hybrid (*Oreochromis* sp.). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, (23): 207-216. Recovered: <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023450010.pdf>.
- Viana, Torres M., Rombenso, A. N., Rio-Zaragoza, O. B., Nomura, M., Díaz-Argüello, R. & Mata-Sotres, J. A. (2019). Intestinal impairment of the California yellowtail, *Seriola dorsalis*, using soybean meal in the diet. *Aquaculture*.
- Watanabe, T., Izquierdo, M. S., Takeuchi, T., Satoh, S. And Kitajima, C., (1989). Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in larval red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, (55): 1635-1640.
- Wilson, R. (2002). Amino Acids and Proteins. In: Halver, J., Hardy, R. (eds), *Fish Nutrition*. (pp.143-179). Elsevier, Amsterdam.
- Yu, R., Cao, H., Huang, Y., Peng, M., Kajbaf, K., Kumar, V., & Wen, C. (2020). The effects of partial replacement of fishmeal protein by hydrolysed feather meal protein in the diet with high inclusion of plant protein on growth performance, fillet quality and physiological parameters of Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze). *Aquaculture research*, 51(2), 636-647.
- Zhang, J., Zhong, L., Peng, M., Chu, W., Liu, Z., Dai, Z., Hu, Y. (2019). Replacement of fish meal with soy protein concentrate in diet of juvenile rice field eel *Monopterus albus*. *Aquaculture* (15 June). doi:10.1016/j.aqrep.2019.100235