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 SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación).

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© 2025. Todos los derechos reservados

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



# Maestría en Ciencias en Acuicultura

El efecto de la frecuencia de alimentación en el desempeño biológico, digestibilidad de la dieta y expresión de genes de saciedad en juveniles de lobina rayada (Morone saxatilis) cultivados en agua marina

Tesis

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

Presenta:

Alondra Nayeli Martínez Franco

Ensenada, Baja California, México 2025

## Tesis defendida por

## Alondra Nayeli Martínez Franco

y aprobada por el siguiente Comité

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

Dr. Misael Rosales Leija

**Dr. Roberto Cruz Flores** 

Dra. Rosa Reyna Mouriño Pérez



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

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

Resumen de la tesis que presenta **Alondra Nayeli Martínez Franco** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Acuicultura.

El efecto de la frecuencia de alimentación en el desempeño biológico, digestibilidad de la dieta y expresión de genes de saciedad en juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*) cultivados en agua marina

Resumen aprobado por:

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

En el cultivo de peces, una estrategia de alimentación adecuada es de suma importancia para disminuir costos de producción. Morone saxatilis, es una de las especies con gran potencial económico, no obstante, su cultivo se ve comprometido debido a los escasos estudios relacionados con la alimentación en condiciones locales. El objetivo fue evaluar la frecuencia de alimentación sobre el desempeño biológico, digestibilidad y genes de saciedad en juveniles de M. saxatilis cultivada en agua marina a 21°C durante 56 días. Un total de 708 organismos (con un peso promedio inicial de 21.97 ± 0.26 g) distribuidos aleatoriamente en 12 tanques con una densidad de 59 peces por tanque. Fueron alimentados a saciedad con una dieta comercial Ewos® (54% proteínas, 14% lípidos) con cuatro frecuencias de alimentación; una cada 4 h cuatro veces al día, una cada 12 h dos veces al día, una cada 24 h una vez al día y una cada 48 h una vez cada dos días (Al4h, Al12h, Al24h y Al48h, respectivamente). Los resultados indican que la frecuencia de alimentación influye significativamente en el desempeño biológico, la eficiencia alimentaria, composición muscular y expresión de genes de saciedad en juveniles de M. saxatilis. La frecuencia Al4h presentó mayor ganancia de peso (40.21 ± 1.63 g) y TCE (1.77 ± 0.04 %), mientras que Al48h resultó con un mejor TCA (0.91 ± 0.03 %) y TEP (2.03 ± 0.06 %). En la composición muscular, Al4h mostró mayor porcentaje de proteínas (77.63 ± 1.16 %) y menor porcentaje de lípidos (16.00 ± 1.21 %). En lo que respecta a la expresión de los genes de saciedad (orexina y leptina) sus respuestas varían en función de la frecuencia y alimento ofrecido, donde los peces del tratamiento Al48h resultaron en una mayor expresión de la orexina y los peces del tratamiento Al4h resultaron con una mayor expresión de la leptina. Bajo nuestras condiciones de cultivo, la frecuencia de alimentación adecuada para obtener el mejor crecimiento es Al24h, sin embargo, si se quiere reducir los costos operativos mejorando la eficiencia alimenticia, la frecuencia alimenticia es Al48h.

Palabras clave: Lobina rayada, frecuencia de alimentación, desempeño biológico, eficiencia alimenticia, expresión de genes de saciedad.

Abstract of the thesis presented by **Alondra Nayeli Martínez Franco** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

The effect of feeding frequency on biological performance, diet digestibility and satiety gene expression in juvenile striped bass (*Morone saxatilis*) cultured in marine water

Abstract approved by:

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera Thesis Director

In the marine fish farming industry, one of the major challenges to reduce costs is related to feeding, prompting the development of strategies to optimize feed utilization. Morone saxatilis is one of the species that has shown great economic potential, however, local culture practices are compromised due to the limited studies related to feeding frequencies. The objective of this study was to evaluate the effect of feeding frequency on the biological performance, feed efficiency, digestibility, and satiety-related genes in juvenile striped bass (M. saxatilis) reared in seawater at 21°C for 56 days. A total of 708 fish (with an initial average weight of 21.97 ± 0.26 g) were randomly distributed into 12 tanks with a capacity of 400 L resulting in stocking densities of 59 per tank. The fish were fed to satiation with a commercial diet Ewos® (54% protein, 14% lipid) under four feeding frequencies, once every 4 h four times per day, once every 12 h twice per day, once every 24 h once per day and once every 48 h (once every two days) (Al4h, Al12h, Al24h, and Al48h, respectively). The results of this research indicate that feeding frequency significantly affected biological performance, feed efficiency, muscle composition, and the expression of genes related to satiety in juvenile striped bass, but not survival or diet digestibility. The Al4h frequency resulted in the highest weight gain (40.21  $\pm$  1.63 g) and SGR (1.77  $\pm$  0.04%). Meanwhile, Al48h resulted in the best FCR (0.91  $\pm$ 0.03%) and PER (2.03 ± 0.06%) with lower feed intake (28.37 g). Al4h showed the highest muscle protein content (77.63  $\pm$  1.16%) and the lowest lipid content (16.00  $\pm$  1.21%). As for the expression of satiety genes (orexin and leptin), responses varied with respect to the feeding frequency and feed availability, where fish in the AI48 treatment resulted in higher orexin expression levels while fish in the treatment AI4 resulted in higher leptin expression levels. Under our cultivation conditions, the recommended feeding frequency to increase growth and feed efficiency was Al12h. Nonetheless, if the objective is to reduce operational costs Al48h, is the optimal feeding frequency.

Keywords: Striped bass, feeding frequency, biological performance, feed efficiency, expression of satiety genes.

## **Dedicatoria**

A mis padres, Ramona Franco y José Juan Martínez, porque gracias a todo su esfuerzo hoy esto es posible. Cada logro en mi vida, siempre tendrá énfasis en ustedes, gracias por enseñarme a no rendirme, a merecer cada logro. Los amo con todo mi corazón.

A mi compañero de vida, Aldo Belmonte, tantos años juntos, tantas experiencias, cada decisión nuestra nos ha llevado tan lejos. Gracias por siempre estar ahí y ser mi inspiración cada día. Te amo.

## **Agradecimientos**

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), por darme la oportunidad de estudiar dentro de su programa de posgrados y hacer uso de sus instalaciones y equipos necesarios para la elaboración de esta investigación.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

A Pacifico Aquaculture S.A.P.I. de C.V., particularmente, al M.C. César Rodríguez. Por donar los juveniles de lobina rayada y el alimento que se requirió para esta investigación.

Al Dr. Juan Pablo Lazo Corvera, por haberme aceptado como su estudiante, por brindarme la confianza y oportunidad de desenvolverme sin ataduras en esta investigación, por escuchar mis dudas y aclarar mis ideas, por brindarme su apoyo para resolver todos aquellos problemas que se me cruzaron en el camino. Agradezco profundamente su tiempo, su gran conocimiento y todos sus consejos que, sin duda alguna, me motivaron para mejorar.

Al Dr. Roberto Cruz Flores, por su infinidad de tiempo invertido, gracias por brindarme su conocimiento, no solo de genética, sino en cada aspecto necesario para el desarrollo de la investigación, que han sido fundamentales en este proceso. Gracias por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y aportar material para la realización de las pruebas genéticas, por estar dispuesto a resolver mis dudas, y por brindarme un nuevo conocimiento. Y a pesar de haber tenido algunos fallos, me dio la oportunidad de intentarlo las veces que fueron necesarias para concluir.

Al Dr. Misael Rosales Leija y a la Dra. Rosa R. Mouriño Pérez, gracias por haber aceptado ser parte de esta investigación, por sus observaciones y comentarios que mejoraron el desarrollo de la investigación.

A todos mis profesores del Departamento de Acuicultura, gracias por cada clase, por cada duda respondida, y por la motivación. Son una parte importante del quien soy ahora.

Al Laboratorio de Nutrición Acuícola, a los Maestros en Ciencias; Abelardo Campos, Lorena Garnica, Eliasid Nogueda, Sofía Fernández y Denise Mayoral, estaré infinitamente agradecida por el apoyo y el tiempo que dedicaron en esta investigación, y por los momentos fuera del laboratorio, los atesoraré muchísimo.

A los Técnicos del Departamento de Acuicultura: Francisco Morineau, Jesús Mariscal y Yanet Guerrero. Y al personal Administrativo del Departamento de Acuicultura: Dalila Mercado, Bibiana Media y Cecilia Loera, por su apoyo brindado en esta investigación.

Al personal de vigilancia, principalmente a la señora Nancy y Don Mario, gracias por su labor tan importante, por estar al pendiente del buen funcionamiento de mi sistema en todo momento, con su apoyo muchas cosas se solucionaron antes de cualquier accidente.

A mis todos mis compañeros de generación; Lesly, César, Victoria, Romario, Hillary, Mayra, Angélica, Evelyn, Sergio, Noé, Aldo y Helena, con especial énfasis a aquellos que siempre estuvieron conmigo, gracias por los momentos tan inolvidables, los viajes, los cumpleaños, las fiestas sin sentido, las comidas, y por todas aquellas celebraciones estando lejos de nuestras familias, ustedes fueron y serán siempre parte importante de mi vida, los quiero.

A mis hermanos, Brandon Osmar, Juan Ignacio y Alexis Gael, gracias por su apoyo, sé que, a pesar de la distancia, siempre están ahí. Les deseo mucho éxito en sus vidas, los quiero muchísimo.

A la Dra. Ceres Molina y al Dr. Fernando Barreto, y a su hermosa familia Cibeles y Andrés, gracias por acogernos en su hogar, a no dejarnos solos en este proceso, agradezco cada momento, cada comida, cada viaje. Son unas increíbles personas, gracias por permitirnos ser parte de su familia, los quiero.

Al Dr. Daniel Badillo Zapata, nunca tendré el tiempo suficiente para agradecer todo lo que ha hecho por nosotros, gracias por la confianza, por el aliento, por la inspiración. Sobre todo, por siempre estar presente.

A la Dra. Viviana M. Mesa Cornejo, usted fue la primera que confió en mí antes de que todo esto sucediera, gracias por darme ese primer escalón tan grande en mi vida. Siempre estaré agradecida.

A Roxana, Elisa, Alex, y Karina, gracias por estar ahí, por el tiempo, las aventuras, las comidas, las conversaciones. Los quiero, y extraño muchísimo.

A cada uno de aquellos que, si bien no están en esta lista no son menos importantes, ustedes saben que han formado parte de este viaje. Gracias infinitas.

## Tabla de contenido

Página

Resumen en español	ii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de figuras	x
Lista de tablas	xiii
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Producción mundial de animales acuáticos	1
1.2 Optimización de la nutrición acuícola	1
1.3 Estrategia de alimentación	2
1.4 Regulación en la ingesta de alimentos	3
1.5 Morone saxatilis	5
Capítulo 2. Antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos	
2.1 Antecedentes	6
2.2 Justificación	9
2.3 Hipótesis	9
2.4 Objetivos	9
2.4.1 Objetivo general	9
2.4.2 Objetivos específicos	10
Capítulo 3. Metodología	11
3.1 Condiciones experimentales	11

3.2	2 Paráme	etros productivos	13
	3.2.1 D	esempeño biológico	13
	3.2.2 Ef	ficiencia alimenticia	14
	3.2.3 ĺn	ndices corporales	14
3.3	Recole	cción de heces	15
	3.4.1	Humedad	16
	3.4.2	Lípidos totales	16
	3.4.3	Proteínas totales	17
	3.4.4	Cenizas totales	17
	3.4.5	ELN	18
3.6	Expresi	ión de genes de saciedad	19
	3.6.1 D	iseño de primers	19
	3.6.2 Ex	xtracción de ARN	21
	3.6.3 C	uantificación relativa	21
3.7	' Costos	de alimentación	22
3.8	3 Análisis	s estadístico	22
Capí	ítulo 4. f	Resultados	23
4.1	. Paráme	etros productivos	23
	4.1.1 D	esempeño biológico	23
	4.1.2 Ef	ficiencia alimenticia e índices corporales	24
4.2	2 Coefici	entes de Digestibilidad Aparente	24
4.3	B Análisis	s proximales del músculo	25
4.4	l Expresi	ión de genes de saciedad	26
	4.4.1 0	rexina	26
	4.4.2 Le	eptina	26

4.5 Costos de alimentación	32
Capítulo 5. Discusión	33
5. 1 Parámetros productivos	33
5.1.2 Desempeño biológico	33
5.1.2 Eficiencia alimenticia e índices corporales	35
5.2 Coeficientes de Digestibilidad Aparente	36
5.3 Análisis proximales del músculo	37
5.4 Expresión génica	38
5.4.1 Orexina	38
5.4.2 Leptina	39
Capítulo 6. Conclusiones	43
6.1 Recomendaciones	43
Literatura citada	45
Anexos	50

# Lista de figuras

Figura	Página
O	U

1	Modelo de regulación del apetito en peces teleósteos. Los controles orexigénicos (positivo) y anorexigénicos (negativos) se integran en el hipotálamo mediante el control de señales periféricas relacionadas con la ingesta de alimentos y almacenamiento de energía. Dichas señales se componen de péptidos (como el neuropéptido Y, orexina, péptido agutí, leptina, péptido YY péptido liberador de gastrina, etc.) y nutrientes que son detectados mediante señales metabólicas ante la ausencia o presencia de alimentos dentro del tracto gastrointestinal. Tomado y modificado de Rønnestad et al., 2017.
2	Dibujo de <i>M. saxatilis</i> , elaboración propia
3	Sistema de recirculación. A: Tanques experimentales, B: tanque de compensación adaptado cor un tanque de sedimentación, C: fraccionador de proteínas, D: biofiltro, E: bomba de calor Elaboración propia utilizando el software de modelado 3D SketchUp
4	Biometría final. Registro de longitud total de <i>M. saxatilis</i> con el ictiómetro
5	Juvenil de <i>M. saxatilis</i> sacrificado para determinar los índices corporales. Se observa el corte longitudinal en la musculatura dorsal con un bisturí para extracción de vísceras, grasa visceral en hígado
6	Extracción de cerebro del juvenil de <i>M. saxatilis</i>
7	Diseño de primers de orexina y leptina en el programa Geneious Prime. En el Panel <b>A</b> se muestra el gen de orexina junto con los dos pares de primers diseñados. Los primers forward se representan en verde oscuro, mientras que los primers reverse se indican en verde claro. En el Panel <b>B</b> se ilustra el gen de leptina con sus respectivos dos pares de primers, utilizando la misma convención de colores: verde oscuro para los primers forward y verde claro para los primers reverse
8	Amplificación de los genes leptina y orexina utilizando los primers diseñados. En el panel superior se muestran los fragmentos correspondientes al tamaño esperado para el gen leptina. Se observa la amplificación correcta en todas las muestras, excepto en la última, donde se detecta la amplificación de múltiples bandas. En el panel inferior, se aprecia la amplificación de un fragmento con el tamaño esperado para el gen orexina, sin evidencia de amplificación de bandas múltiples
9	Expresión del gen de la orexina en cerebro <i>antes</i> de alimentar, en juveniles de lobina rayada ( <i>M saxatilis</i> ) alimentados durante 56 días. Las barras representan media ± desviación estándar (D.E. de muestras por triplicado n=3 (exceptuando al tratamiento Al48h n=2). Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas

10	( <i>M. saxatilis</i> ) alimentados durante 56 días. Las barras representan media ± desviación estándal (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
11	Expresión del gen de la orexina en cerebro <i>antes</i> vs <i>después</i> de alimentar dentro de cada tratamiento evaluado, en juveniles de lobina rayada ( <i>M. saxatilis</i> ) alimentados durante 56 días Las barras representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 (exceptuando al tratamiento Al48h antes n=2). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas Al48h= una alimentación cada 48 horas.
12	Expresión del gen de la leptina en hígado <i>antes</i> de alimentar, en juveniles de lobina rayada ( $M$ saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media $\pm$ desviación estándar (D.E. de muestras por triplicado n=3 (exceptuando al tratamiento Al48h n=1). Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P$ < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
13	Expresión del gen de la leptina en hígado $despu\'es$ de alimentar, en juveniles de lobina rayada ( $M$ $saxatilis$ ) alimentados durante 56 días. Las barras representan media $\pm$ desviación estándar (D.E. de muestras por triplicado n=3 Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P$ < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.
14	Expresión del gen de la leptina en hígado <i>antes</i> vs <i>después</i> de alimentar dentro de cada tratamiento evaluado, en juveniles de lobina rayada ( $M.$ saxatilis) alimentados durante 56 días Las barras representan media $\pm$ desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 ((exceptuando al tratamiento Al48h antes n=1). * indica diferencias significativas entre antes vs después entre cada tratamiento ( $P < 0.05$ ). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas Al48h= una alimentación cada 48 horas.
15	Expresión del gen de la leptina en intestino <i>antes</i> de alimentar, en de juveniles de lobina rayada ( <i>M. saxatilis</i> ) alimentados con las frecuencias experimentales durante 56 días. Las barras representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
16	Expresión del gen de la leptina en intestino $despu\'es$ de alimentar, en de juveniles de lobina rayada ( $M. saxatilis$ ) alimentados durante 56 días. Las barras representan media $\pm$ desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.
17	Expresión del gen de la leptina en intestino antes vs después de alimentar dentro de cada

tratamiento evaluado, en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días.

	Las barras representan media $\pm$ desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. * indica diferencias significativas entre antes vs después entre cada tratamiento ( $P < 0.05$ ). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas31
18	Costos de alimento por kilogramo de lobina rayada ( $M.$ saxatilis) producida durante 56 días. Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
19	Distribución de frecuencias de pesos de los juveniles de <i>M. saxatilis</i> en los tratamientos al final del bioensayo de alimentación (día 56). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
20	Alimento total consumido de los juveniles de <i>M. saxatilis</i> en los diferentes horarios de alimentación. Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
21	Expresión de génica de orexina y leptina, en los diferentes tejidos evaluados de los peces <i>antes</i> de ser alimentados. Estos datos muestran la regulación del hambre con respecto al control orexígenico (orexina) y anorexígenico (leptina). Ante una alta expresión de orexina (peces con hambre), esto se relaciona con una baja expresión de leptina (peces no saciados). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas
22	Expresión de génica de orexina y leptina, en los diferentes tejidos evaluados de los peces <i>después</i> de ser alimentados. Estos datos muestran la regulación del hambre con respecto al control orexígenico (orexina) y anorexígenico (leptina). Ante una baja expresión de orexina (peces sin hambre), esto se relaciona con una alta expresión de leptina (peces saciados). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día.

## Lista de tablas

Tabla	Página
1	Frecuencias de alimentación para los juveniles de lobina rayada ( <i>M. saxatilis</i> )12
2	Secuencia de pares de oligonucleótidos utilizados en la reacción de RT-qPCR, se muestra el tamaño de ampliación en pares de bases (pb), eficiencia de reacción (E) y coeficientes de determinación de Pearson (R²)
3	Desempeño biológico y supervivencia de juveniles de lobina rayada ( <i>M. saxatilis</i> ), sometidos a distintas frecuencias de alimentación23
4	Eficiencia alimenticia e Índices corporales de juveniles de lobina rayada ( <i>M. saxatilis</i> ), sometidos a distintas frecuencias de alimentación24
5	Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) de dieta, proteínas y lípidos25
6	Análisis proximales en base seca del músculo de juveniles de lobina rayada ( <i>M. saxatilis</i> ), sometidos a distintas frecuencias de alimentación26

## Capítulo 1. Introducción

#### 1.1 Producción mundial de animales acuáticos

En el año 2024, la FAO registró una producción mundial de 185.4 millones de toneladas en peso vivo de organismos acuáticos, estos datos representan un máximo histórico significativo en relación con años anteriores. De este total, la producción acuícola (excluyendo las algas) alcanzó 94.4 millones de toneladas representando el 51% del total, superando la producción de pesca de captura, que produjo 91 millones de toneladas (49%). Del total de la producción mundial de la pesca y acuicultura, el 89% fue destinado al consumo humano, proporcionado el equivalente de 20,7 kg per cápita (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2024).

Para el año 2050 se prevé que, ante el crecimiento exponencial de la población, la acuicultura genere de forma sostenible el 25% del consumo per cápita de alimentos acuáticos. Por ello, se busca actualmente mejorar los sistemas acuícolas sostenibles mediante desarrollos tecnológicos que optimicen, principalmente, el uso y consumo de agua. Entre estas iniciativas destacan las buenas prácticas de alimentación de precisión, la cual no solo satisface los requerimientos nutricionales de las especies cultivadas, sino que también contribuyen a reducir costos y minimizar el desperdicio de alimento. Esto, a su vez, mejora la calidad del agua y promueve mayor sostenibilidad tanto ambiental como económica (FAO, 2022).

## 1.2 Optimización de la nutrición acuícola

En la producción acuícola, una de las grandes preocupaciones es el impacto ambiental, y la sostenibilidad de los alimentos utilizados. Se ha identificado un uso excesivo de proteínas que no son completamente aprovechadas por las especies cultivadas, lo que genera desperdicios significativos tanto económicos como ecológicos. Esta ineficiencia resulta en la acumulación de fosforo y nitrógeno, promoviendo la acumulación de residuos orgánicos que, a su vez, contribuyen a la eutroficación del agua (Madrid-Hernández, 2019; FAO, 2020).

Por lo tanto, uno de los retos en la producción de organismos acuáticos es reducir la contaminación por el desperdicio generado por el alimento no consumido (Abdo-de la Parra et al., 2020). En la industria acuícola, el éxito en la cría de peces se encuentra determinada en gran parte por la calidad y cantidad de alimento, así como por la frecuencia de alimentación (Zakęś et al. 2006), por lo tanto, una alimentación correcta es factor clave en el éxito de una unidad acuícola, principalmente en las primeras etapas de vida de los organismos (Oliveira-Tenazoa y Delgado-Vargas, 2019), ya que el alimento representa el mayor costo operacional (de hasta el 70%), por lo que se han desarrollado estrategias para eficientizar el aprovechamiento del alimento (Spieler, 2000; Davis & Hardy, 2022; Vázquez-Vera et al., 2022).

## 1.3 Estrategia de alimentación

La frecuencia de alimentación es una de las estrategias con mayor impacto dentro de las industrias acuícolas, ya que puede optimizar la eficiencia alimenticia, minimizan el desperdicio de alimentos (lo que mejora la calidad del agua) y reducir los costos de producción (Oliveira-Tenazoa y Delgado-Vargas, 2019; Abdo-de la Parra *et al.*, 2020). Se entiende como frecuencia de alimentación, al número de veces al día que se le es proporcionado el alimento a los organismos (Davis & Hardy, 2022).

Se ha demostrado que, en algunas especies de juveniles de peces marinos, es imprescindible tener altas frecuencias de alimentación, para poder tener un buen rendimiento de cultivo. Sin embargo, también se ha encontrado que la sobrealimentación provoca reducciones en cuanto a la eficiencia alimenticia y puede causar una acumulación de lípidos excesiva, por consecuencia genera grandes desperdicios que incrementan los costos de producción. Por otro lado, una subalimentación afecta directamente al crecimiento adecuado y la supervivencia de los peces, ya que no proporciona los nutrientes esenciales, lo que incrementa su susceptibilidad a enfermedades (Güroy et al., 2006; Oh et al., 2018; Oliveira-Tenazoa y Delgado-Vargas, 2019; Abdo-de la Parra et al., 2020).

Los estudios que se enfocan en la frecuencia de alimentación en peces han concluido que los factores abióticos más importantes son los siguientes: calidad del alimento, sistema de cultivo, temperatura del agua y el fotoperiodo; y de los factores bióticos son: la especie, etapa de vida, capacidad estomacal, tiempo de digestión, talla, densidad de cría, y biorritmo de los peces. Debido a esto la frecuencia de alimentación es especie-especifica, por lo que todos estos factores son sustanciales para poder determinar una

frecuencia óptima para una especie determinada y se deben estudiar (Tsevis *et al.,* 1992; Ganzon-Naret, 2013; Abdo-de la Parra *et al.,* 2020, Davis & Hardy, 2022).

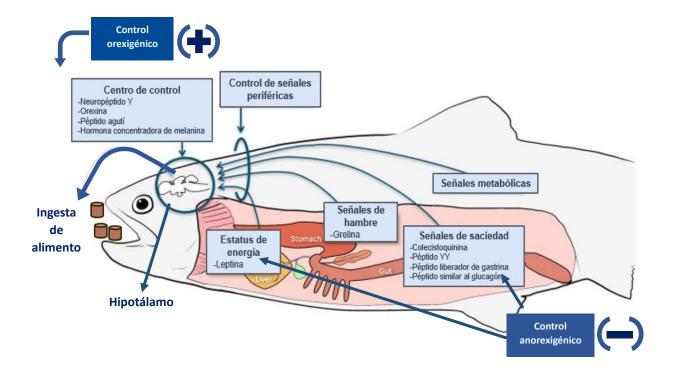
Si bien la frecuencia de alimentación óptima proporciona las herramientas necesarias para que se optimice el cultivo de la especie aumentando la eficiencia alimenticia, absorción de nutrientes, digestión, crecimiento y supervivencia, reduciendo así los costos de producción, también se debe considerar que se aporten los nutrientes necesarios dentro del pellet (Abdo-de la Parra *et al.*, 2020; Davis & Hardy, 2022).

### 1.4 Regulación en la ingesta de alimentos

La ingesta de alimentos es crucial para la supervivencia y el desarrollo de los organismos, ya que permite una óptima asignación de recursos energéticos destinadas a satisfacer las principales demandas metabólicas y sistema inmunológico, así como impulsar el crecimiento somático, y mantener reservas de energía garantizando la reproducción (Rønnestad et al., 2017). Tanto en los peces como en otros vertebrados, la ingesta de alimentos es regulada por un sistema homeostático controlado por hormonas producidas en el cerebro y otros tejidos. Este proceso involucra señales periféricas y centrales integradas en el hipotálamo, que son consideradas parte del centro de integración, y que se encargan de controlar el apetito y el equilibrio energético (Rønnestad et al., 2017). Esto último se debe a que estas señales periféricas, también incluyen las señales que cuantifican los nutrientes mediante sistemas de detección gastrointestinales y de aferencias vágales que se proyectan al cerebro (Rønnestad et al., 2017; Butt et al., 2019). El hipotálamo responde liberando señales endócrinas que se dividen en dos grupos: orexigénicas, que inducen el comportamiento alimenticio, y anorexigénicas, que inhiben el apetito (Rønnestad et al., 2017; Butt et al., 2019; Nadermann et al., 2019). Se tienen diversas hormonas y neuropéptidos involucrados en la regulación de la ingesta del alimento, pero en esta investigación haremos énfasis en la orexina, que es un neuropéptido orexigénico que es producido en el cerebro, mientras que la leptina es una hormona anorexigénica, y es producida en los tejidos periféricos (tracto gastrointestinal, tejido adiposo e hígado), ya que es un indicador endocrino de las reservas de energía (Volkoff, 2016; Rønnestad et al., 2017; Butt et al., 2019).

En la Figura 1 se muestra un diagrama de algunas de las hormonas y neuropéptidos que han sido descritos en teleósteos y que regulan la ingesta de alimento, en donde el hipotálamo integra todas las señales que son producidas en los diferentes órganos periféricos (Rønnestad *et al.*, 2017). Sin embargo, la información disponible hasta ahora sobre la integración del sistema del apetito en teleósteos es diversa, limitada y poco

estudiada. Además, puede variar en función de los hábitos alimenticios de cada especie y de los mecanismos de adaptación, existiendo grados de resistencia y/o adaptaciones que dependerán de la morfología intestinal del organismo (donde los peces herbívoros tienden a tener intestinos largos y delgados en comparación a los peces carnívoros) (Bar y Volkoff, 2012; Won *et al.*, 2012; Rønnestad *et al.*, 2017; Butt *et al.*, 2019). Los peces herbívoros suelen tener un suministro constante de alimento, mientras que los omnívoros adaptan sus hábitos de alimentación a la disponibilidad de alimento, y por otro lado los carnívoros suelen alimentarse de manera más irregular debido a la menor disponibilidad de presas adecuadas, por consecuencia, estos dos últimos presentan mayor resistencia a la privación de alimento. Estas características reportadas sugieren una gran diversidad de variaciones interespecíficas en cuanto a la regulación endocrina del proceso alimenticio (Butt *et al.*, 2019). Diversos estudios señalan que los hábitos alimenticios influyen en la expresión y función de los reguladores del apetito, y que estas variaciones pueden diferir entre especies. Sin embargo, esta relación aún no está completamente comprendida, lo que resalta la importancia de integrar más estudios comparativos.



**Figura 1.** Modelo de regulación del apetito en peces teleósteos. Los controles orexigénicos (positivo) y anorexigénicos (negativos) se integran en el hipotálamo mediante el control de señales periféricas relacionadas con la ingesta de alimentos y almacenamiento de energía. Dichas señales se componen de péptidos (como el neuropéptido Y, orexina, péptido agutí, leptina, péptido YY, péptido liberador de gastrina, etc.) y nutrientes que son detectados mediante señales metabólicas ante la ausencia o presencia de alimentos dentro del tracto gastrointestinal. Tomado y modificado de Rønnestad et al., 2017.

#### 1.5 Morone saxatilis

La lobina rayada (*Morone saxatilis*) (Figura 2) es un pez anádromo, poiquilotermo con hábitos alimenticios carnívoros, es una especie originaria de la costa atlántica de América del Norte. Fue introducida en 1879 en el Océano Pacífico para estimular su pesca deportiva (Andersen *et al.*, 2021). Esta especie ha demostrado tener un gran potencial para la acuacultura, siendo comercializada para el consumo humano dado que presenta un buen perfil nutricional (i.e., aminoácidos y ácidos grasos esenciales) y es ampliamente apreciada en el mercado debido a que el tamaño para su comercialización (1.36 – 2.72 kg) se obtiene entre los 18 a 24 meses (Consejo Mexicano de Promoción de los Productos Pesqueros y Acuícolas, 2015; Cano-Vera, 2019, Andersen *et al.*, 2021; Vázquez-Vera *et al.*, 2022). Actualmente es cultivada en jaulas marinas en la isla de Todos Santos en Baja California, México por una empresa, Pacifico Aquaculture, que se dedica a su comercialización (Cano-Vera, 2019; Mayoral-Noriega, 2024).

La especie se caracteriza principalmente por tener un cuerpo alargado ligeramente comprimido que posee franjas oscuras en la mitad superior de su cuerpo, alcanza medidas de 150 cm de largo con un peso máximo de 35 kilogramos, con una longevidad de 25 años (Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura, 2022). No obstante, el cultivo de esta especie se ve comprometido debido a los escasos estudios nutricionales, ya que aún no se tienen dietas específicas para esta especie cultivada en agua marina y bajo las condiciones locales de Baja California, por lo que es necesario continuar las investigaciones relacionadas con la nutrición y la alimentación para poder utilizar dietas óptimas, así mismo, se observa una notable carencia de investigaciones centradas en frecuencias de alimentación, lo que resalta la necesidad de investigaciones futuras. Hasta ahora, la mayoría de los estudios realizados se han centrado principalmente en híbridos de la lobina.

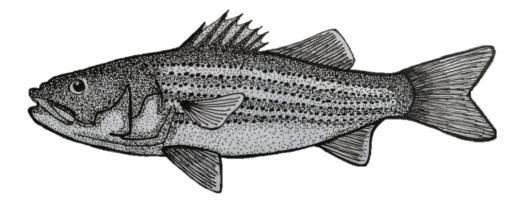


Figura 2. Dibujo de M. saxatilis, elaboración propia.

## Capítulo 2. Antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos

#### 2.1 Antecedentes

Los estudios han determinado que la frecuencia de alimentación óptima es considerada especie-especifico, por lo que es imprescindible establecer regímenes de alimentación para cada especie estudiada, con la finalidad de aportar al conocimiento requerido para un cultivo más eficiente (Oh *et al.*, 2018). De este modo, las prácticas alimenticias optimizadas mejoran la eficiencia alimenticia, el consumo de alimento, el crecimiento, la supervivencia, entre otros factores, reduciendo el desperdicio del alimento y costos de producción (Oliveira-Tenazoa y Delgado-Vargas, 2019; Abdo-de la Parra *et al.*, 2020). Por esta razón, se han llevado a cabo diversos estudios para determinar el protocolo de alimentación óptimo en especies de interés acuícola, con el objetivo de establecer estrategias eficientes que optimicen la frecuencia de alimentación.

Una de las especies de las que se ha estudiado el efecto de la frecuencia de alimentación es el róbalo de bandas oscuras (*Sebastes inermis*). Oh *et al.* (2018) evaluaron la supervivencia, crecimiento, eficiencia alimenticia y composición bioquímica de juveniles de esta especie, donde las frecuencias de alimentación evaluadas fueron las siguientes; una ración cada 2 días, una ración al día, dos raciones al día y tres raciones al día, alimentados a saciedad con una dieta comercial (51% de proteína). Estos autores encontraron que la frecuencia de alimentación no afectó la supervivencia de los juveniles, sin embargo, los peces alimentados con dos y tres raciones al día tuvieron los mayores valores crecimiento y consumo de alimento. En lo que respecta en la eficiencia alimenticia, índice de eficiencia proteica y tasa de alimentación no se vieron afectados por la frecuencia de alimentación. Los autores encontraron que a medida que aumentaba la frecuencia de alimentación aumentó significativamente la cantidad de lípidos y proteínas en el organismo completo, por lo que se concluye que la ración más rentable para esta especie es de dos raciones al día.

Por su parte, Oh y Venmathi-Maran (2015), evaluaron la frecuencia de alimentar una, dos, tres y cuatro raciones por día, sobre el efecto en el crecimiento, consumo de alimento, y la composición corporal de juveniles del pez perico rayado (*Oplegnathus fasciatus*) alimentado a saciedad con una dieta comercial (42.5% de proteína). En este estudio, los peces alimentados con tres y cuatro raciones al día, presentaron las mayores tasas específicas de crecimiento y la tasa de alimentación, mientras que la tasa de conversión

alimenticia no se vio afectada por la frecuencia de alimentación. Además, la variación de tamaño en peso de los peces al final del experimento disminuyó significativamente con el aumento de la frecuencia de alimentación (i.e., menos variación de tallas). En cuanto a la composición bioquímica, los contenidos de lípidos aumentaron conforme la frecuencia alimenticia aumentaba. Estos autores concluyeron que la frecuencia de alimentación óptima, la cual está destinada a mejorar el crecimiento en juveniles de *O. fasciatus*, es de tres raciones por día, además de reducir los costos operacionales, esto adecuándose a sus condiciones experimentales.

También se han evaluado los efectos de la frecuencia de alimentación en juveniles de la doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*). En un estudio se evaluó el efecto que tiene alimentar dos, cuatro y seis raciones al día, sobre el crecimiento, utilización del alimento y supervivencia, alimentados con una dieta comercial (42% de proteína) a una tasa del 5% de su biomasa. Los resultados mostraron que los índices de crecimiento, utilización del alimento y supervivencia no se vieron afectados por la frecuencia de alimentación, por lo que se concluyó que los juveniles de *P. fasciatum* necesitan ser alimentados con dos raciones al día, para tener un adecuado rendimiento productivo y reducir los costos operacionales (Guerra-Grandez *et al.*, 2009).

En otro estudio, Dwyer *et al.* (2002) evaluaron la frecuencia de alimentación (4 raciones, 2 raciones, 1 ración al día, y 2 raciones cada dos días) sobre el consumo de alimentación y crecimiento en juveniles de la platija de cola amarilla (*Limanda ferruginea*) alimentados a saciedad. Los autores reportan que los peces alimentados con menor frecuencia (una vez al día y dos raciones cada dos días), obtuvieron los mejores resultados en cuanto a consumo de alimento y crecimiento. Estos autores, concluyen que este resultado posiblemente se debió a la reducción de la disponibilidad de alimento en cada ración, dado que los organismos consumían mayor cantidad de alimento al momento de alimentarlos con menor frecuencia, en comparación a los que tuvieron más raciones al día (Dwyer *et al.*, 2002). Por otro lado, se han evaluado los efectos de la alimentación y la inanición sobre el rendimiento, y la composición química corporal de los juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), los cuales fueron sometidos a 1, 2, y 3 días de inanición. Los resultados arrojaron que 1 día de inanición resulto en las mejores tasas de crecimiento, conversión alimenticia y contenido bioquímico del organismo (Taşbozan *et al.*, 2016).

Actualmente no se han evaluado los efectos de la frecuencia de alimentación en lobina rayada (*M. saxatilis*), ni se ha estipulado una frecuencia óptima, pero se tiene información con otras especies de lobinas como la europea (*Dicentrarchus labrax L.*), el hibrido de la lobina rayada (*M. saxatilis x M. chrysops*)

y la lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Tsevis *et al.*, 1992; Liu & Liao, 1999; Biswas *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2021).

Tsevis et al. (1992) evaluaron en alevines de la lobina europea (*Dicentrarchus labrax L.*) diferentes frecuencias de alimentación (una, dos, tres y cuatro veces al día) con diferentes patrones de alimentación (luz 12 h al día y 24 h al día), encontrando que el alimento consumido sí se vio afectado por la frecuencia de alimentación, al igual que la tasa de crecimiento específico (TCE), donde los valores más bajos fueron para la menor frecuencia de alimentación (una vez al día). Los autores concluyen que la frecuencia de alimentación óptima para alevines de lobina europea es de dos raciones al día.

En juveniles de la lobina híbrida (*M. saxatilis x M. chrysops*), se evaluaron los efectos de la frecuencia de alimentación sobre peso, consumo de alimento, crecimiento y composición corporal. Los peces fueron alimentados con seis frecuencias de alimentación; una ración diaria, dos raciones diarias (durante el día), dos raciones diarias (una de día y una por la noche), tres raciones diarias (con intervalos de 3 horas), tres raciones diarias (con intervalos de 6 horas) y cuatro raciones diarias. Estos autores encontraron que el aumento de la frecuencia de alimentación resultó en un aumento en ganancia en peso y mayor ingesta de alimento, pero se disminuyó la eficiencia de conversión alimenticia. Donde la tasa máxima de crecimiento especifico fue en el régimen de tres raciones diarias (con 6 horas de intervalo), así mismo indicaron una baja variación de tamaño en los peces alimentados con más frecuencias. Adicionalmente, los peces alimentados con 3 raciones cada 6 horas obtuvieron los mayores valores de contenido de lípidos, mientras que no se encontraron diferencias significativas en el resto de los compuestos bioquímicos como proteínas y cenizas. Estos resultados ayudaron a los autores a considerar que la mejor frecuencia de alimentación fue de 3 raciones con intervalos de 6 horas, bajo sus condiciones de cultivo (Liu y Liao, 1999).

Por último, en alevines de lobina asiática (*Lates calcarifer*) se encontró que al someterla a cuatro frecuencias de alimentación (Biswas *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2021) con dos dietas comerciales de 55 y 46 % de proteína, respectivamente, la frecuencia alimenticia afectó significativamente la ganancia en peso, TCE, supervivencia y TCA, encontrando que la menor frecuencia de alimentación tuvo los valores más bajos. En ambos estudios se determinó que la frecuencia óptima para lograr un máximo rendimiento de crecimiento, supervivencia y TCA es de tres raciones al día, esto adecuándose a sus condiciones experimentales.

#### 2.2 Justificación

La lobina rayada (*M. saxatilis*) es una especie marina de interés comercial debido a que posee una alta calidad nutricional. Sin embargo, el cultivo de esta especie en agua marina presenta una notable falta de información en lo que respecta a su alimentación bajo condiciones de cultivo, esto limita la mejora en la producción acuícola de esta especie. Por lo que es de gran importancia establecer estrategias de alimentación para la optimización de su cultivo que maximicen el desempeño biológico y, a su vez, reduzcan los costos operativos. En este contexto, el presente estudio pretende abordar esta falta de información para obtener datos más precisos sobre las frecuencias de alimentación, para generar nuevas estrategias que mejoren el desempeño de los cultivos de esta especie bajo las condiciones locales e impulsar el crecimiento de la industria acuícola de manera eficiente y sostenible.

### 2.3 Hipótesis

- I. La frecuencia de alimentación de 2 raciones cada 12 horas (Al12h) al día presentará los valores más altos en cuanto al desempeño biológico, eficiencia alimenticia y digestibilidad de la dieta en juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).
- II. Las frecuencias de alimentación menores a dos veces al día (i.e., Al24h y Al48h) aumentará la expresión de la orexina y disminuirán la expresión de la leptina.

## 2.4 Objetivos

#### 2.4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la frecuencia de alimentación sobre el desempeño biológico, eficiencia alimenticia, digestibilidad de la dieta y expresión de genes de saciedad en juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) cultivados en agua marina a 21°C.

#### 2.4.2 Objetivos específicos

- I. Evaluar el efecto de la frecuencia de alimentación sobre el desempeño biológico (ganancia en peso, incremento en peso relativo (IPR), biomasa final, tasa de crecimiento especifico (TCE) y supervivencia) en juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).
- II. Evaluar el efecto de la frecuencia de alimentación sobre la eficiencia alimenticia (alimento consumido (AC), tasa de conversión alimenticia (TCA) y tasa de eficiencia proteica (TEP) y los índices corporales (factor de condición, índice hepatosomático (IHS), índice viscerosomático (IVS) e índice liposomático (ILS)) de los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).
- III. Analizar el efecto de la frecuencia de alimentación en la digestibilidad de la dieta suministrada a los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).
- IV. Analizar el efecto de la frecuencia de alimentación en la composición bioquímica del músculo de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).
- V. Evaluar el efecto de la frecuencia de alimentación en la expresión de genes relacionados con la saciedad (i.e., orexina y leptina) en los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).
- VI. Evaluar el efecto de la frecuencia de alimentación sobre los costos de alimentar a los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*).

## 3.1 Condiciones experimentales

Los juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*) se obtuvieron de la empresa Pacifico Aquaculture S.A.P.I. de C.V. y fueron transportados al laboratorio de peces marinos del Departamento de Acuicultura del CICESE, donde se mantuvieron en condiciones óptimas de cultivo para la especie durante el período de aclimatación, y se alimentaron con una dieta comercial EWOS® de 2 mm (54% de proteína, 14% de lípidos, 10% de cenizas) tres veces al día en intervalos de tres horas (09:00, 12:00 y 15:00) a saciedad aparente durante 4 semanas.

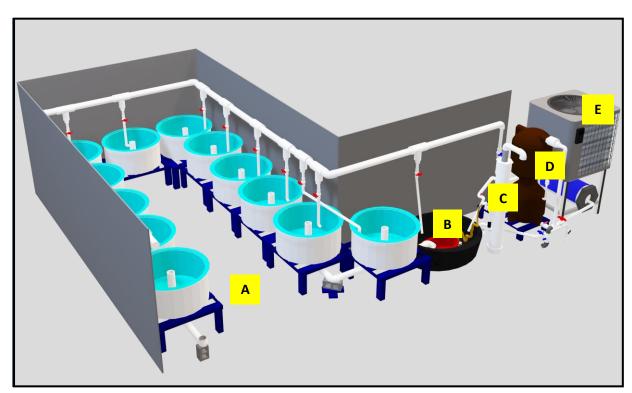
Se distribuyeron aleatoriamente 59 organismos por tanque en un sistema de 12 tanques (n= 708 organismos) con un peso inicial promedio de 21.97 ± 0.26 g. El sistema experimental constó de 12 tanques de fibra de vidrio con una capacidad de 500 L adaptados a un sistema de recirculación de agua de mar, a una salinidad de 35 ppt y una temperatura de 19-20 °C. El sistema de recirculación acuícola estuvo integrado por un tanque de compensación y un sedimentador con una capacidad de 500 L, un biofiltro de micro cuentas plásticas (Bubble bead filter, International Filter Solutions #5232586, USA) y un fraccionador de proteínas, adaptado a una bomba de agua de ¾ HP (Wave II- 2 speed pump, USA) y una bomba de calor/frío (chiller) de 2 HP (Aqua Logic Inc. model 2TWB0018A1000AB, USA) (Figura 3). El sistema se mantuvo con un recambio parcial del 20% del agua y se contó con aireación constante, los tanques mantuvieron un flujo de agua de 0.8 litros por segundo. Se monitorearon diariamente con un analizador YSI (model Pro-2030, USA) las mediciones de oxígeno disuelto (OD), salinidad y temperatura, mientras que los compuestos nitrogenados (NAT, NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>+), alcalinidad (ALK) y pH, fueron cuantificados cada tercer día con un kit colorimétrico (API®, USA)

El diseño experimental del presente estudio comprendía evaluar cuatro frecuencias de alimentación; una alimentación cada 4 horas 4 veces al día (Al4h), una alimentación cada 12 horas dos veces al día (Al12h; control), una alimentación cada 24 horas (Al24h) y una alimentación cada 48 horas (Al48h). Dado que no se ha establecido un régimen alimenticio óptimo para esta especie, se decidió basarse en la experiencia acumulada en estudios previos realizados en el Laboratorio de Peces Marinos del Departamento de Acuicultura, utilizando un régimen de dos raciones diarias como tratamiento de control.

La clasificación y horarios se muestran en la Tabla 1. Frecuencias de alimentación para los juveniles de lobina rayada (M. saxatilis).. Cada tratamiento se realizó por triplicado (n=3) utilizando 3 tanques independientes por cada régimen alimenticio. Los organismos fueron alimentados a saciedad aparente con la dieta comercial EWOS® de 3 mm (54% de proteína y 14% de lípidos) y se cuantificó diariamente el consumo de alimento por tanque, la duración del experimento fue de 8 semanas.

Tabla 1. Frecuencias de alimentación para los juveniles de lobina rayada (M. saxatilis).

Régimen alimenticio	Frecuencia de alimentación	Horario de alimentación
Al4h	4	08:00 - 12:00 - 16:00 - 20:00
Al12h	2	08:00 -20:00
Al24h	1	08:00
Al48h	1 cada 48 h	08:00



**Figura 3.** Sistema de recirculación. A: Tanques experimentales, B: tanque de compensación adaptado con un tanque de sedimentación, C: fraccionador de proteínas, D: biofiltro, E: bomba de calor. Elaboración propia utilizando el software de modelado 3D SketchUp.

## 3.2 Parámetros productivos

Durante el bioensayo se realizaron dos biometrías, una inicial (día 1) y una final (al día 56) (Figura 4), donde los peces fueron anestesiados con aceite de clavo (0.05 ml·L<sup>-1</sup>). Una vez anestesiados, los peces se pesaron con una báscula (Rhino, Bapre-3 con una capacidad máx. de 3 kg y un min. de 10 g) y se midieron con un ictiómetro (Aquatic, Eco-Systems, Inc., USA), donde se registró el peso total (g) y la longitud total (cm), respectivamente.



**Figura 4.** Biometría final. Registro de longitud total de *M. saxatilis* con el ictiómetro.

#### 3.2.1 Desempeño biológico

El desempeño biológico de los organismos fue estimado por medio de las siguientes fórmulas:

Ganancia en peso 
$$(g) = \frac{Peso\ final\ (g)}{Peso\ inicial\ (g)}$$
 (1)

Biomasa final 
$$(g) = ((Peso\ final\ (g))\ x\ Total\ de\ peces\ al\ final\ del\ experimento)$$
 (2)

Incremento en peso relativo (IPR) = 
$$\left( \frac{(Peso\ final\ (g) - Peso\ inicial\ (g))}{Peso\ inicial\ (g)} \right) x\ 100$$
 (3)

Tasa de crecimiento específico (TCE)

$$= 100 \left[ \left( \frac{(In \ peso \ final \ (g) - In \ peso \ inicial \ (g))}{Tiempo \ determinado} \right) - 1 \right]$$
 (4)

$$Supervivencia = \left(\frac{N^{\circ} de \ peces \ final}{N^{\circ} \ peces \ inicial}\right) x \ 100 \tag{5}$$

#### 3.2.2 Eficiencia alimenticia

Durante cada ración de alimentación, el alimento fue pesado con una báscula digital gramera (Lidert CE-B200 con una capacidad máx. de 200 y un min. de 0.01 g) y se estimó la eficiencia alimenticia por medio de las siguientes fórmulas:

Alimento consumido (AC) = 
$$\frac{Peso\ total\ de\ alimento\ consumido\ (g)}{N^{\circ}\ de\ peces\ total} \tag{6}$$

Tasa de conversion alimenticia (TCA) = 
$$\frac{Alimento \ consumido \ (AC) \ (g)}{Peso \ ganado \ (g)}$$
(7)

Tasa de eficiencia proteíca (TEP) = 
$$\frac{[Peso\ final\ (g)\ -\ peso\ incial\ (g)]}{Peso\ de\ la\ proteína\ consumida\ (g)}$$
 (8)

## 3.2.3 Índices corporales

Al final del bioensayo, se utilizaron 5 peces de cada tanque (15 peces·tratamiento<sup>-1</sup>) para determinar los índices corporales. Los peces fueron sacrificados por sobredosis de aceite de clavo (SIGMA) (2 ml·L<sup>-1</sup>); se registró el peso total (g) y longitud total (cm) de cada organismo con una báscula y un ictiómetro respectivamente, posterior a este paso los peces fueron diseccionados con un kit de disección, para la obtención de las vísceras, hígado y grasa visceral (Figura 5), a las cuales se les registro el peso. Los índices corporales se calcularon mediante las fórmulas obtenidas de Ni *et al.* (2021):

Factor de condición (FC) = 
$$\left(\frac{Peso\ total\ del\ organismo\ (g)}{Longitud\ total^3}\right) x\ 100$$
 (9)

$$\text{Índice viscerosomático (IVS)} = \left(\frac{Peso de vísceras (g)}{Peso total (g)}\right) x 100$$
(10)

Índice hepatosomático (IHS) = 
$$\left(\frac{Peso\ del\ hígado\ (g)}{Peso\ total\ (g)}\right) x\ 100$$
 (11)

Índice liposomático (ILS) = 
$$\left(\frac{Peso\ de\ grasa\ visceral\ (g)}{Peso\ total\ (g)}\right) x\ 100$$
 (12)



**Figura 5**. Juvenil de *M. saxatilis* sacrificado para determinar los índices corporales. Se observa el corte longitudinal en la musculatura dorsal con un bisturí para extracción de vísceras, grasa visceral e hígado.

#### 3.3 Recolección de heces

Durante el bioensayo, la recolección de la materia fecal comenzó a las dos semanas después de alimentar a los peces a saciedad aparente. Los peces fueron alimentados con la primera alimentación del día (8:00 am) y se esperó alrededor de 30 minutos y hasta 4 horas para que comenzaran a defecar los peces (el tiempo dependió del tratamiento, siendo el tratamiento Al48h el que más tardaron los peces en defecar). La recolección de heces comenzó antes de que comenzara el proceso de lixiviación. La recolección de heces se realizó cada dos días, con un sifón y retenidas con un filtro de 140 µm. Las heces fueron enjuagadas con agua destilada para eliminar rastro de agua salada, se almacenaron en tubos falcón de 50 mL, y se mantuvieron a -20°C para su posterior análisis. Para preservar las muestras de heces, estas se liofilizaron a -80°C durante 2 días o hasta extraer toda la humedad, posterior a esto las heces se cuantificaron en una báscula. Este proceso fue repetido hasta obtener 5 g de peso seco de heces por tanque, las heces secas se refrigeraron a 4°C para su posterior análisis.

## 3.4 Análisis bioquímico

Se analizó la composición bioquímica de la dieta, heces y músculo del organismo. Para la obtención del músculo inicial se utilizaron 2 peces en total, mientras que, para el muestreo final, se obtuvieron 2 peces de cada tanque (6 peces·tratamiento<sup>-1</sup>). Una vez eviscerados, se les realizó un corte longitudinal en la musculatura dorsal con un bisturí para obtener el músculo de cada pez. Los músculos fueron colocados en

tubos falcón de 50 mL previamente etiquetados, y se almacenaron a -20°C para su posterior análisis. A todas las muestras se les determinó humedad, lípidos, proteínas y cenizas, siguiendo los protocolos de la Asociación Oficial de Químicos Internacionales (A.O.A.C., 2005). Así mismo, los análisis se realizaron por triplicado y se describen brevemente a continuación;

#### 3.4.1 Humedad

El contenido de humedad de las muestras se obtuvo colocándolas en la estufa de secado a 135 °C por 2 horas para extraer la humedad del músculo, dieta y heces. El contenido de humedad se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% Humedad = \left(\frac{Peso \ muestra \ h\'umeda - Peso \ muestra \ seca}{Peso \ muestra \ h\'umeda}\right) x \ 100 \tag{13}$$

#### 3.4.2 Lípidos totales

A las muestras secas, se les realizó la extracción de lípidos con el método de Soxhlet, usando éter de petróleo como solvente acarreador. El contenido de lípidos totales se calculó por medio de la siguiente ecuación:

% Lípidos totales = 
$$\left(\frac{P1 - P2}{Pm}\right) x 100$$
 (14)

Donde:

P1 = Peso del vaso antes de la extracción (g)

P2 = Peso del vaso después de la extracción (g)

Pm = Peso de la muestra (g)

#### 3.4.3 Proteínas totales

La extracción de proteínas totales de las muestras secas se realizó siguiendo el método de microKjeldahl, el cual consiste en tres procesos denominados: "digestión", "destilación" y "titulación". El porcentaje de proteínas totales se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% Nitrogeno total = \left(\frac{(V \times N \times meqN)}{Pm}\right)$$
 (15)

$$% Proteina total = % Nitrógeno total x 6.5$$
 (16)

Donde:

V = Volumen de HCL gastados al titular (mL)

N = Normalidad de HCL

meqN = miliequivalentes de Nitrógeno = 0.014 g

Pm = Peso de la muestra (g)

#### 3.4.4 Cenizas totales

La cuantificación de cenizas se realizó por medio de la incineración de las muestras a 550 °C durante 6 horas en una mufla (Lindergerg/Blue M, modelo BF51842PBFMC-1), y por diferencia de peso se determinó el contenido de cenizas totales, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%Cenizas = \left(\frac{PC1 - PC2}{Pm}\right) \times 100 \tag{17}$$

Donde:

PC1 = Peso del crisol con cenizas (g)

PC2 = Peso del crisol vacío (g)

Pm = Peso de la muestra (g)

#### 3.4.5 ELN

El extracto libre de nitrógeno (ELN) se calculó indirectamente con la siguiente fórmula:

$$\%ELN = 100 - (\% proteina total + \% lipidos totales + \% cenizas)$$
(18)

## 3.5 Determinación del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA)

Para determinar el coeficiente de digestibilidad aparente de la dieta en cada tratamiento, se utilizó el método de cenizas insolubles en acido (CIA) descrito por Van Keulen y Young en 1977, modificado por Montaño-Vargas *et al.*, 2002. Las muestras de heces de cada tanque fueron pesadas e incineradas a 500°C en una mufla durante 4 horas. Las cenizas (50 mg) fueron hervidas en ácido clorhídrico (HCl) al 2 N (5 mL) cubiertas con un filtro de reloj. Una vez hervida la muestra, se filtraron con agua destilada y un filtro Whatman (110 mm) previamente calcinado y pesado, con una bomba de vacío, este filtro fue incinerado a 450°C por 5 horas en una mufla (Lindergerg/Blue M, modelo BF51842PBFMC-1), y con el método gravimétrico se obtuvieron las cenizas insolubles que se retuvieron en el filtro. Por medio de las siguientes ecuaciones se calcularon los porcentajes de cenizas insolubles en ácido (CIA):

$$\% CIA = \left(\frac{Peso \ de \ ceniza \ insoluble \ (g)}{Peso \ de \ materia \ seca \ (g)}\right) \ x \ 100 \tag{19}$$

Una vez obtenido el porcentaje de CIA en las dietas y heces, se utilizó la siguiente fórmula para obtener el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de la dieta:

% 
$$CDA = [100 - \left(\frac{CIA\% \ en \ dieta}{CIA\% \ en \ heces}\right)] \times 100$$
 (20)

También se obtuvieron los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de proteínas y lípidos con la siguiente fórmula propuesta por Cho y Kaushik (1990):

$$\% CDA (Proteinas y Lipidos) = \left(1 - \frac{\% ND}{\% NH} x \frac{\% CIAH}{\% CIAD}\right) x 100$$
 (21)

Donde:

ND= % del nutriente en la dieta

NH= % del nutriente en las heces

CIAD= % de ceniza insoluble en la dieta

CIAH= % de ceniza insoluble en las heces

## 3.6 Expresión de genes de saciedad

Se evaluó el efecto de la frecuencia de alimentación en la expresión relativa de los genes relacionados con la regulación del apetito; leptina y orexina. Para el análisis de la expresión de la leptina se utilizaron muestras de tejido del intestino distal e hígado, mientras que el tejido cerebral se empleó para evaluar la expresión de la orexina. Las muestras fueron recolectadas *antes* y *después* de la alimentación de los peces, con un kit de disección (Figura 6), estas fueron estabilizadas en RNAlater y almacenadas a -80 °C para su conservación.



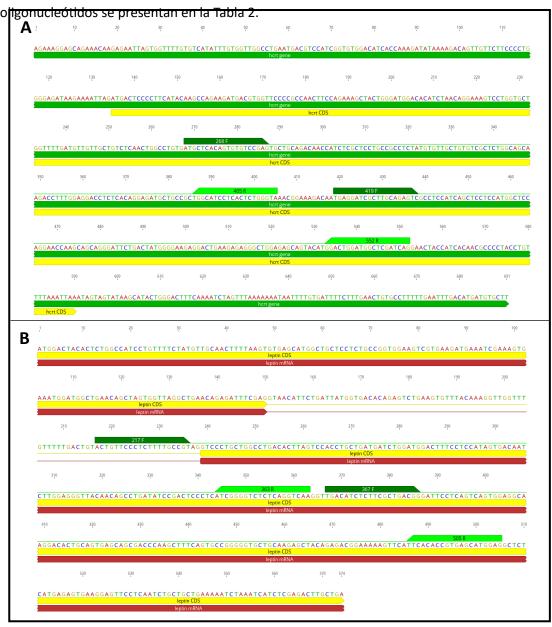
Figura 6. Extracción de cerebro del juvenil de M. saxatilis.

#### 3.6.1 Diseño de primers

Tras obtener el genoma de la lobina rayada (*M. saxatilis*), disponible en GenBank con el número de referencia XM 035655406, el archivo fue importado al programa Geneious Prime (

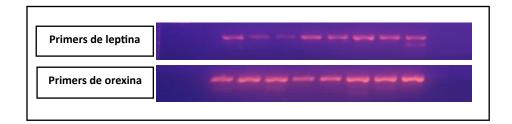
Figura 7). Con base en esta secuencia, se diseñaron dos pares de primers, uno para la leptina y otro para la orexina, ajustando el tamaño de los fragmentos amplificados a un rango de 100-200 pb. Posteriormente, las secuencias de los primers se analizaron con la herramienta Primer-BLAST del NCBI para verificar su

afinidad con *M. saxatilis* y otras especies. Como gen de referencia, se empleó el 18S, cuya secuencia está disponible en GenBank bajo el número de acceso HM754483.1, garantizando así una adecuada normalización en la expresión génica. Una vez validados los primers, estos fueron sintetizados por la empresa Eton Bioscience, Inc., en San Diego, CA, USA. Una vez obtenidos los primers, se evaluó su especificidad mediante amplificación por PCR y posterior análisis por electroforesis en un gel de agarosa al 2%, con el fin de asegurar la ausencia de múltiples fragmentos en los tejidos correspondientes (Figura 8). Tras la visualización del gel, se seleccionó un primer específico para cada gen. Las secuencias de los pares



**Figura 7.** Diseño de primers de orexina y leptina en el programa Geneious Prime. En el Panel **A** se muestra el gen de orexina junto con los dos pares de primers diseñados. Los primers forward se representan en verde oscuro, mientras que los primers reverse se indican en verde claro. En el Panel **B** se ilustra el gen de leptina con sus respectivos dos

pares de primers, utilizando la misma convención de colores: verde oscuro para los primers forward y verde claro para los primers reverse.



**Figura 8.** Amplificación de los genes leptina y orexina utilizando los primers diseñados. En el panel superior se muestran los fragmentos correspondientes al tamaño esperado para el gen leptina. Se observa la amplificación correcta en todas las muestras, excepto en la última, donde se detecta la amplificación de múltiples bandas. En el panel inferior, se aprecia la amplificación de un fragmento con el tamaño esperado para el gen orexina, sin evidencia de amplificación de bandas múltiples.

**Tabla 2.** Secuencia de pares de oligonucleótidos utilizados en la reacción de RT-qPCR, se muestra el tamaño de ampliación en pares de bases (pb), eficiencia de reacción (E) y coeficientes de determinación de Pearson (R²).

Gen	Secuencia sentido (5'-3')	Secuencia antisentido (3'-5')	Tamaño pb	E	R <sup>2</sup>
<b>18</b> ′S	CGGTTCTATTTTGTGGGTTTTC	CTTTCGCTTTCGTCCGTCTT	126	0.98	1.00
Leptina	TGACATCTCTTCGCTGACGG	CTCCATGCTCACGGTGTGAA	138	0.93	0.97
Orexina	TGAGGATCGCTTGCAGAGTC	CTGATCGAGCCATCCAGTCC	133	0.91	0.93

#### 3.6.2 Extracción de ARN

Para la extracción de ARN total de las muestras se empleó el kit comercial RNeasy® de QIAGEN, siguiendo el protocolo del fabricante. La calidad y cantidad del ARN extraído se evaluaron mediante espectrofotometría a 260/280 nm usando un Nanodrop2000™ (ThermoFisher Scientific, USA). Posteriormente, el ARN total fue sometido a una reacción de limpieza de 20 µl utilizando el kit DNase I, RNase-free de Thermo Scientific™ para asegurar la eliminación de cualquier rastro de ADN.

#### 3.6.3 Cuantificación relativa

Finalmente, se llevó a cabo la síntesis de ADNc mediante la transcriptasa inversa utilizando el kit SensiFAST™ SYBR® No-ROX One-Step de Meridian Bioscience® en preparación para las posteriores reacciones de PCR. Se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) utilizando un termociclador Rotor-Gene (Corbett Research, Qiagen). La cuantificación relativa de los genes de interés se realizó aplicando el método  $\Delta C_T$  (Livak & Schmittgen, 2008), con umbrales y líneas base establecidos automáticamente por el software del equipo para determinar los valores de  $C_T$  y en ocasiones el  $C_T$  se estableció manualmente. La expresión relativa se cuantifico con la siguiente ecuación obtenida de Schmittgen & Livak, (2008):

$$2^{-\Delta CT} = \left[2^{-\left(CT^{Gen de interés} - CT^{Gen de referencia}\right)}\right]$$
 (22)

## 3.7 Costos de alimentación

Se calcularon los costos de alimentación con base en el precio del alimento multiplicado por el consumo de alimento y la eficiencia alimenticia (TCA), dando como resultado el costo general de alimentar a los organismos durante el experimento en cada tratamiento.

## 3.8 Análisis estadístico

Se comprobó normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk, y la homocedasticidad con la prueba de Levene en todos los datos obtenidos del experimento. Si los datos se ajustaron con los supuestos estadísticos se aplicó una prueba de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Si se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos se les aplicó una prueba  $post\ hoc$  de Tukey para identificar dichas diferencias. Si los datos no cumplieron los supuestos, se les aplico una prueba de Kruskal-Wallis, si se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos, se les aplicó una prueba  $post\ hoc$  de Dunn. Para el análisis de los datos de expresión génica ( $antes\ vs\ después\ de\ ser$  alimentados), se utilizó la prueba de t-Student. Se estableció un nivel de significancia de P < 0.05. Se utilizaron los programas estadísticos SPSS versión 25 y SigmaPlot versión 11.

## 4.1 Parámetros productivos

## 4.1.1 Desempeño biológico

En la Tabla 3 se observan los resultados obtenidos del desempeño biológico de los organismos alimentados con las cuatro frecuencias de alimentación. Se observa una tendencia, donde a mayor frecuencia de alimentación mayor desempeño biológico, siendo el tratamiento Al4h el que presentó valores mayores con respecto al peso final ( $61.95 \pm 1.72$  g), ganancia en peso ( $40.21 \pm 1.63$  g), biomasa final ( $6.195.25 \pm 172.21$  g), IPR ( $184.96 \pm 6.74$  %) y TCE ( $1.77 \pm 0.04$  %), sin diferencias significativas con los tratamientos Al12h y Al24h. Sin embargo, el tratamiento AL48h presentó valores significativamente menores (P < 0.05) que todos los demás tratamientos para cada una de las variables antes mencionadas ( $52.99 \pm 1.24$  g,  $31.15 \pm 1.31$  g,  $5.238.92 \pm 114.34$  g,  $142.65 \pm 6.73$  % y  $1.50 \pm 0.04$  %, respectivamente). Adicionalmente, se observó que ningún tratamiento tuvo un efecto significativo (P < 0.05) en la supervivencia de los organismos.

**Tabla 3.** Desempeño biológico y supervivencia de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*), sometidos a distintas frecuencias de alimentación.

	Al4h	Al12h	Al24h	Al48h
Peso inicial (g)	21.74 ± 0.09	22.11 ± 0.17	22.20 ± 0.22	21.84 ± 0.22
Peso final (g)	61.95 ± 1.72 <sup>a</sup>	60.50 ± 1.87°	58.64 ± 2.08 <sup>a</sup>	52.99 ± 1.24 <sup>b</sup>
Ganancia en peso (g)	40.21 ± 1.63 <sup>a</sup>	38.39 ± 1.97°	36.44 ± 2.32°	31.15 ± 1.31 <sup>b</sup>
Biomasa final (g)	6,195.25 ±	6,049.94 ±	5,864.29 ±	5,238.92 ±
	172.21 <sup>a</sup>	186.67ª	207.62°	114.34 <sup>b</sup>
IPR (%)	184.96 ± 6.74°	173.66 ± 9.85°	164.26 ±	142.65 ± 6.73 <sup>b</sup>
			12.32 <sup>ab</sup>	
TCE (%)	TCE (%) 1.77 ± 0.04 <sup>a</sup> 1.71 ±		1.65 ± 0.08 <sup>ab</sup>	1.50 ± 0.04 <sup>b</sup>
Supervivencia (%) 100 1		100	100	99

- Incremento en peso relativo (IPR), tasa de crecimiento especifico (TCE)
- Los valores representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3.
- Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05)
- Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

### 4.1.2 Eficiencia alimenticia e índices corporales

En lo que respecta a la eficiencia alimenticia (Tabla 4), podemos observar que a mayor frecuencia de alimentación mayor AC, donde el tratamiento Al4h obtuvo numéricamente el mayor valor (43.65  $\pm$  1.13 g pez  $^{-1}$ ), siendo similar al tratamiento Al12h (40.64  $\pm$  1.01 g pez  $^{-1}$ ), y estos fueron significativamente diferentes (P < 0.05) al tratamiento Al24h (36.16  $\pm$  2.72 g pez  $^{-1}$ ) y Al48h (28.37  $\pm$  0.40 g pez  $^{-1}$ ) siendo este último el valor numéricamente más bajo. Con respecto a la TCA podemos observar que a menor frecuencia de alimentación hay mayor TCA, donde el tratamiento Al48h fue el que menor valor obtuvo (0.91  $\pm$  0.03), siendo similar al tratamiento Al24h (0.96  $\pm$  0.02), pero significativamente diferente (P < 0.05) a los tratamientos AL24h y AL48h. En la TEP se observa la tendencia de que a menor frecuencia de alimentación mayor utilización de la proteína, siendo el tratamiento Al48h el que mayor TEP obtuvo (2.03  $\pm$  0.06), sin diferencias estadísticas con los tratamientos Al24h (1.92  $\pm$  0.05) y Al24 (1.92  $\pm$  0.05), pero los tratamientos AL4h y Al12h fueron significativamente menores (P < 0.05) al tratamiento Al48h (2.03  $\pm$  0.06). En la Tabla 4, también se observa que la frecuencia de alimentación no influyó en los índices corporales, como el FC, IHS, IVS y ILS.

**Tabla 4.** Eficiencia alimenticia e Índices corporales de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*), sometidos a distintas frecuencias de alimentación.

	Al4h	Al12h	Al24h	Al48h
AC (g .pez <sup>-1</sup> )	43.65 ± 1.13°	40.64 ± 1.01 <sup>a</sup>	36.16 ± 2.72 <sup>b</sup>	28.37 ± 0.40 <sup>c</sup>
TCA	1.09 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.96 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.91 ± 0.03°
TEP	1.71 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.75 ± 0.08°	1.92 ± 0.05 <sup>ab</sup>	2.03 ± 0.06 <sup>b</sup>
FC	1.15 ± 0.03	1.14 ± 0.01	1.13 ± 0.02	1.13 ± 0.02
IHS	2.00 ± 0.26	1.95 ± 0.09	1.94 ± 0.11	1.93 ± 0.07
IVS	12.53 ± 0.65	12.64 ± 0.88	13.43 ± 0.42	13.48 ± 0.04
ILS	2.88 ± 0.19	2.84 ± 0.25	3.25 ± 0.19	2.77± 0.25

- Alimento consumido (AC), tasa de conversión alimenticia (TCA), tasa de eficiencia proteica (TEP), factor de condición (FC), índice hepatosomático (IHS), índice viscerosomático (IVS), índice liposomático (ILS).
- Los valores representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3.
- Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05)
- Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

# 4.2 Coeficientes de Digestibilidad Aparente

En la Tabla 5 se presentan los valores de coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de la dieta y nutrientes. No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05) en los valores de CDA

de la dieta. Sin embargo, el porcentaje de digestibilidad de las proteínas disminuyó conforme la frecuencia de alimentación aumentó, siendo el tratamiento Al48h el que obtuvo el valor más alto ( $80.81 \pm 1.31$ ) con respecto a los demás tratamientos, sin diferencias significativas con el tratamiento Al24h ( $76.64 \pm 2.98$ ). Mientras que en el porcentaje de digestibilidad de los lípidos se observa que el tratamiento Al24h ( $94.33 \pm 0.93$ ) fue similar al tratamiento Al4h ( $91.63 \pm 2.07$ ), pero significativamente diferente (P < 0.05) a los tratamientos Al12h ( $89.12 \pm 1.27$ ) y AL48h ( $90.60 \pm 0.58$ ).

**Tabla 5.** Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) de dieta, proteínas y lípidos.

	Al4h	Al12h	Al24h	Al48h
<b>CDA Dieta</b> 53.12 ± 4.95		49.18 ± 7.32	46.18 ± 7.12	46.17 ± 2.13
CDA Proteínas	73.56 ± 1.90 <sup>a</sup>	74.44 ± 2.61 <sup>a</sup>	76.64 ± 2.98 <sup>ab</sup>	80.81 ± 1.31 <sup>b</sup>
CDA Lípidos	91.63 ± 2.07 <sup>ab</sup>	89.12 ± 1.27 <sup>a</sup>	94.33 ± 0.93 <sup>b</sup>	90.60 ± 0.58 <sup>a</sup>

- Los valores representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3.
- Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05)
- Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

# 4.3 Análisis proximales del músculo

En cuanto a los análisis proximales del músculo de los peces (Tabla 6) se encontraron diferencias significativas con respecto a la frecuencia de alimentación, a excepción de las cenizas. En lo que respecta a la proteína total, los peces alimentados con el tratamiento Al4h obtuvieron el mayor valor (77.63  $\pm$  1.16%) y fue significativamente diferente (P < 0.05) a los demás tratamientos, siendo los peces alimentados con el tratamiento Al12h los que obtuvieron el valor numéricamente menor (68.35  $\pm$  2.61%) sin diferencias significativas con AL24h (69.32  $\pm$  1.17%) y Al48h (71.98  $\pm$  1.24%). En los lípidos totales se observa que los peces alimentados con el tratamiento Al12h obtuvieron el mayor porcentaje de lípidos (23.13  $\pm$  3.19%), sin diferencias estadísticas con Al24h (21.69  $\pm$  0.60%) ni Al48h (19.98  $\pm$  1.04%). Por su parte los peces alimentados con el tratamiento Al4h (16.00  $\pm$  1.21%) resultaron con porcentaje de lípidos numéricamente menor, sin diferencias significativas con el tratamiento Al4h (19.98  $\pm$  1.04%), pero significativamente diferente (P < 0.05) a los tratamientos Al12h y Al24h.

**Tabla 6.** Análisis proximales en base seca del músculo de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*), sometidos a distintas frecuencias de alimentación.

	Inicial	Al4h	Al12h	Al24h	Al48h
Proteína total	70.70 ± 0.67	77.63 ± 1.16 <sup>a</sup>	68.35 ± 2.61 <sup>b</sup>	69.32 ± 1.17 <sup>b</sup>	71.98 ± 1.24 <sup>b</sup>
Lípidos totales	17.95 ± 0.26	16.00 ± 1.21 <sup>a</sup>	23.13 ± 3.19 <sup>b</sup>	21.69 ± 0.60 <sup>b</sup>	19.98 ± 1.04 <sup>ab</sup>
Cenizas totales	4.62 ± 0.35	4.18 ± 0.28	3.72 ± 0.45	3.55 ± 0.41	4.49 ± 0.47
ELN	6.73	2.19	4.80	5.44	3.55

- Los valores representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3.
- ELN: Extracto libre de nitrógeno.
- Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05)
- Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

## 4.4 Expresión de genes de saciedad

#### 4.4.1 Orexina

La expresión relativa del gen de la orexina en cerebro se presenta en las siguientes Figuras (9-11), donde se observa que la expresión de la orexina en el cerebro si se vio afectada por las frecuencias de alimentación, específicamente en los peces *antes* de que fueran alimentados del tratamiento Al48h con respecto a los demás tratamientos (Figura 9) (P < 0.05), siendo este último tratamiento el que presento una mayor expresión de orexina. Si bien se observa el mismo comportamiento en la expresión relativa *después* de que los peces fueran alimentados no se presentaron diferencias significativas con respecto a los tratamientos (P < 0.05) (Figura 10). Adicionalmente, se evaluaron estadísticamente las diferencias en la expresión de orexina *antes* vs *después* de la alimentación en cada tratamiento (Figura 11), y no se presentaron diferencias significativas (P < 0.05).

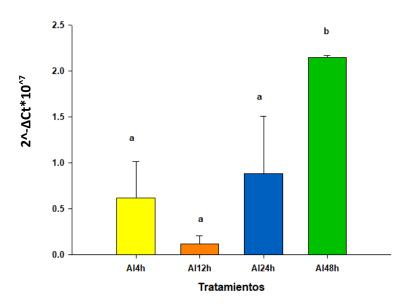
### 4.4.2 Leptina

La expresión relativa del gen de la leptina en hígado se presenta en las siguientes Figuras (12-14), donde se puede observar que esta expresión si se vio afectada por las frecuencias de alimentación. En la Figura 12, se muestra la expresión relativa de los peces *antes* de que fueran alimentados, y en la Figura 13 *después* de que los peces fueran alimentados, en ambas figuras se muestra que los peces del tratamiento Al4h tuvieron valores de expresión de leptina mayores, siendo significativamente diferentes (P < 0.05) con

respecto a los demás tratamientos. Por último, en la expresión *antes* vs *después* de alimentarse por cada tratamiento evaluado (Figura 14), se puede observar que la expresión de leptina en el tratamiento Al4h, Al12h y Al48h tuvieron diferencias significativas (P < 0.05), observándose que aumentando su expresión *después* de ser alimentados con respecto a *antes* de ser alimentados.

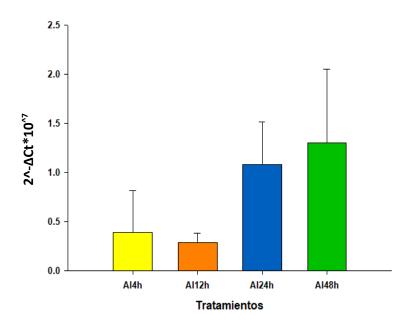
La expresión relativa del gen de la leptina en intestino de los peces se presenta en las siguientes Figuras (15-17), donde se muestra la expresión relativa *antes* de que los peces fueran alimentados en la Figura 15, y en la Figura 16, *después* de que fueron alimentados. En lo que respecta a la expresión de la leptina en el intestino *antes* de que fueran alimentados, se puede observar un aumento en la expresión en los peces del tratamiento Al4h, sin embargo, estas no fueron significativamente diferentes con respecto a los demás tratamientos (P < 0.05). En lo que respecta a los peces *después* de ser alimentados, la expresión del tratamiento Al4h presento los valores más altos, no obstante, fue similar en los demás tratamientos, exceptuando en el tratamiento Al24h, quien si presentó diferencias significativas (P < 0.05). En la expresión de la leptina *antes* vs *después* de alimentarse de cada tratamiento evaluado (Figura 17) se encontraron diferencias significativas (P < 0.05), en los peces del tratamiento Al4h, y Al48h, aumentando su expresión *después* de ser alimentados con respecto a la expresión *antes* de ser alimentados.

### Expresión génica de orexina en cerebro antes de comer



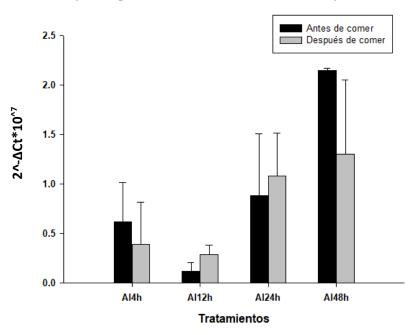
**Figura 9.** Expresión del gen de la orexina en cerebro *antes* de alimentar, en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 (exceptuando al tratamiento Al48h n=2). Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de orexina en cerebro después de comer



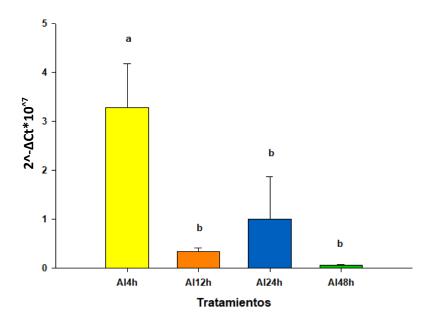
**Figura 10.** Expresión del gen de la orexina en cerebro *después* de alimentar, en de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) alimentados durante 56 días. Las barras representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

### Expresión génica de orexina en cerebro antes vs después de comer



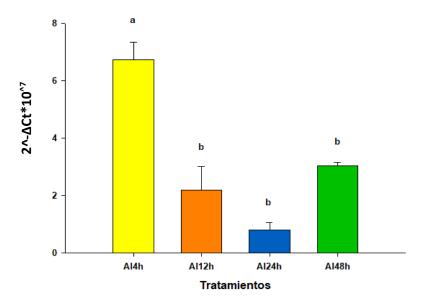
**Figura 11.** Expresión del gen de la orexina en cerebro *antes* vs *después* de alimentar dentro de cada tratamiento evaluado, en juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) alimentados durante 56 días. Las barras representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 (exceptuando al tratamiento Al48h antes n=2). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al2h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de leptina en hígado antes de comer



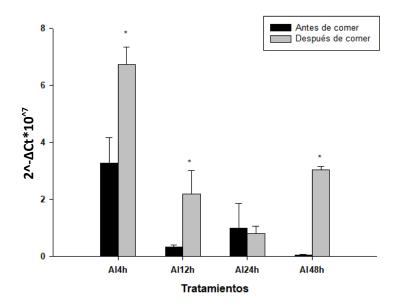
**Figura 12**. Expresión del gen de la leptina en hígado *antes* de alimentar, en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 (exceptuando al tratamiento Al48h n=1). Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de leptina en hígado después de comer



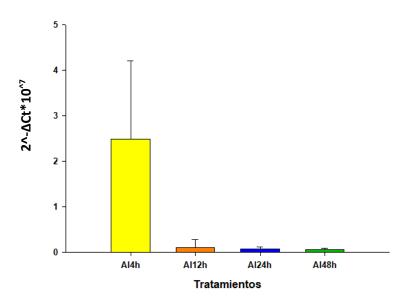
**Figura 13.** Expresión del gen de la leptina en hígado *después* de alimentar, en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de leptina en hígado antes vs después de comer



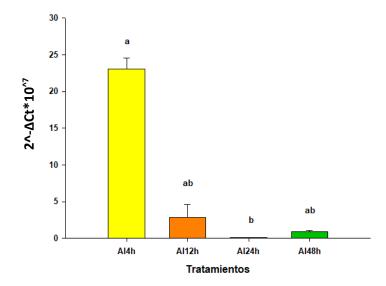
**Figura 14.** Expresión del gen de la leptina en hígado *antes* vs *después* de alimentar dentro de cada tratamiento evaluado, en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3 ((exceptuando al tratamiento Al48h antes n=1). \* indica diferencias significativas entre antes vs después entre cada tratamiento (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de leptina en intestino antes de comer



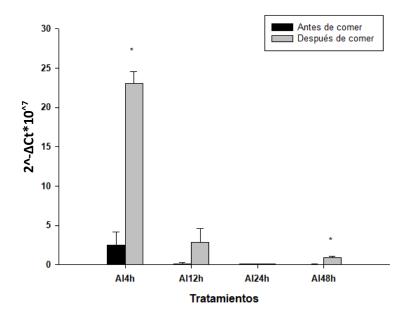
**Figura 15.** Expresión del gen de la leptina en intestino *antes* de alimentar, en de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) alimentados con las frecuencias experimentales durante 56 días. Las barras representan media ± desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al2h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de leptina en intestino después de comer



**Figura 16**. Expresión del gen de la leptina en intestino *después* de alimentar, en de juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al2h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

#### Expresión génica de leptina en intestino antes vs después de comer

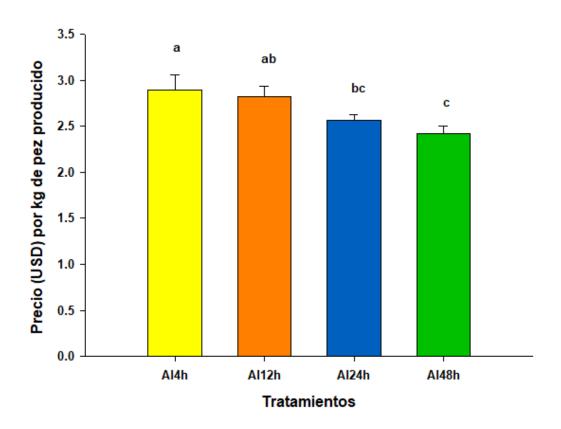


**Figura 17**. Expresión del gen de la leptina en intestino *antes* vs *después* de alimentar dentro de cada tratamiento evaluado, en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis) alimentados durante 56 días. Las barras representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. \* indica diferencias significativas entre antes vs después entre cada tratamiento (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

### 4.5 Costos de alimentación

Por último, lo que respecta al costo general de alimentar a los organismos en cada tratamiento se muestra en la Figura 18. Para estimar este valor se consideró el alimento Ewos® a un costo de \$2.66 USD/kg. Se observan diferencias significativas (P < 0.05) entre tratamientos, donde a mayor frecuencia de alimentación mayor es el costo de alimentar a los organismos, por kilogramo de pez producido, siendo el tratamiento Al4h ( $2.89 \pm 0.16$  USD) el que presentó mayor costo de producción, siendo similar al tratamiento Al12h, mientras que el tratamiento Al48h presento el menor costo de alimentación ( $2.42 \pm 0.07$  USD), siendo similar que el tratamiento Al24h.

### Costo del alimento por kilogramo de pez producido



**Figura 18.** Costos de alimento por kilogramo de lobina rayada (M. saxatilis) producida durante 56 días. Los valores representan media  $\pm$  desviación estándar (D.E.) de muestras por triplicado n=3. Letras en superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.

# Capítulo 5. Discusión

Para un futuro sostenible de la industria acuícola, es imprescindible implementar estrategias que reduzcan el consumo de alimento sin afectar la eficiencia alimenticia de los organismos. Es por ello que los estudios relacionados con la frecuencia de alimentación y su efecto en la productividad muestran un gran potencial para cumplir con estos objetivos. Este estudio se enfocó en determinar la frecuencia de alimentación óptima para la lobina rayada (*M. saxatilis*) comparando alimentar cuatro veces, dos veces, y una vez por día, o una vez cada dos días.

Los resultados del presente estudio indican que la frecuencia de alimentación tuvo un efecto significativo en diversos aspectos clave, incluyendo el desempeño biológico, la digestibilidad de la dieta, la expresión génica y los costos asociados a la alimentación. Estos resultados subrayan la relevancia de establecer una frecuencia de alimentación óptima para maximizar el rendimiento y la eficiencia en el cultivo de juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) en condiciones de agua marina a 21 °C. Además, la implementación de estrategias alimenticias adecuadas no solo mejora el crecimiento y la salud de los organismos, sino que también contribuye a la sostenibilidad económica y ambiental del sistema de producción. Este enfoque representa una oportunidad para optimizar prácticas acuícolas y reducir el impacto negativo asociado al manejo inadecuado de recursos.

# 5. 1 Parámetros productivos

### 5.1.2 Desempeño biológico

En el presente estudio se encontró que la disminución de la frecuencia de alimentación afecta directamente el desempeño biológico de los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*). Estos resultados son consistentes a los reportados en diferentes especies de lobinas tales como lobina europea (*Dicentrarchus labrax L.*), lobina hibrida (*M. saxatilis* × *M. chrysops*), y lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Tsevis *et al.*, 1992; Liu & Liao, 1999; Biswas *et al.*, 2010, Ganzon-Naret, 2013). Los resultados obtenidos en la presente investigación indicaron que los peces alimentados con el tratamiento Al48h obtuvieron los valores más bajos en peso final, ganancia en peso y tasa de crecimiento especifico (TCE), esto hace alusión a que a menor frecuencia de alimentación menor desempeño biológico. Estos resultados son consistentes con lo

reportado para la lobina hibrida (*M. saxatilis* × *M. chrysops*) (Liu & Liao, 1999), lobina europea (*D. labrax L.*) (Tsevis *et al.*, 1992), lobina asiática (*L. calcarifer*) (Biswas *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2021) y el pez de roca de bandas oscuras (*Sebastes inermis*) (Oh *et al.*, 2018). Estos resultados pueden deberse a que existe una menor ingesta de alimento en las frecuencias de alimentación bajas (a diferencia de las altas frecuencias de alimentación, donde suelen tener un mayor consumo), por lo que los peces no logran satisfacer sus requerimientos en cuanto a nutrientes y energía para ser destinados a un buen desarrollo somático, los que resulta en un aumento de su actividad natatoria para buscar alimento, provocando mayores gastos energéticos, y una menor tasa de crecimiento (Biswas *et al.*, 2010).

Por lo otro lado, también hay estudios que demostraron que la frecuencia de alimentación no afectó directamente al desempeño biológico, como lo encontrado en juveniles de lobina europea (*D. labrax*) (Güroy *et al.*, 2006), lucioperca (*Sander lucioperca*) (Zakęś *et al.*, 2006), tilapia azul (*OreochromIs aureus*) (Vega-Villasante *et al.*, 2011) y doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) (Guerra-Grandez *et al.*, 2009). Los autores sugieren que esto podría deberse a que los peces no logran alcanzar su máximo potencial de crecimiento al no regular adecuadamente su ingesta de alimentos. En otras palabras, su capacidad de crecimiento se vio limitada por un aprovechamiento insuficiente del alimento disponible. Estos resultados sugieren que la frecuencia de alimentación tiene un efecto especie-especifico en el desempeño biológico, es decir, estos resultados pueden llevar a variar dependiendo de la especie, talla y edad del organismo, calidad del alimento y sistema de cultivo, entre otros factores (Ganzon-Naret, 2013; Abdo-de la Parra *et al.*, 2020).

Por otra parte, en lo que respecta a la supervivencia de los peces, los resultados obtenidos en lobina híbrida (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*), doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*), tilapia azul (*Oreochromls aureus*), lobina asiática (*Lates calcarifer*), pez de roca de bandas oscuras (*Sebastes inermis*) (Liu & Liao, 1999; Guerra-Grandez *et al.*, 2009; Vega-Villasante *et al.*, 2011; Ganzon-Naret, 2013; Oh *et al.*, 2018), concuerdan con los obtenidos en la presente investigación, donde la frecuencia de alimentación no afectó la supervivencia de los peces. En contraste, en lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Biswas *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2021), la frecuencia de alimentación afectó significativamente la supervivencia. Donde la menor frecuencia de alimentación resultó en los valores más bajos de supervivencia. Los autores hacen alusión de que una disminución en la frecuencia de alimentación puede aumentar el canibalismo entre los peces, teniendo comportamientos agresivos al ser peces carnívoros y reduciendo su supervivencia. Los comportamientos descritos previamente son habituales en *M. saxatilis*; no obstante, en la presente investigación, la implementación de una alimentación a saciedad ha logrado prevenir dichas conductas. En

contraste, en los estudios de Biswas *et al.* (2010) y Hassan *et al.* (2021), donde los peces fueron alimentados en función del porcentaje de su biomasa (10 % y 8 %, respectivamente) lo que resulto en un incremento en los comportamientos agresivos, disminuyendo su supervivencia.

### 5.1.2 Eficiencia alimenticia e índices corporales

En el presente estudio se encontró que el aumento de la frecuencia de alimentación resultó en una disminución de la eficiencia alimenticia en los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*). Estos resultados son consistentes con los reportados para la lobina hibrida (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*) y en la lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Liu & Liao, 1999; Biswas *et al.*, 2010). Esto podría explicarse por el hecho de que una mayor frecuencia de alimentación tiende a incrementar la cantidad de alimento consumido, lo que, a su vez, favorece un aumento en la TCE. Estos resultados son consistentes con los obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, al tener intervalos más cortos entre alimentaciones, se reduce el tiempo en que los organismos tienen para aprovechar el alimento ingerido, reduciendo la digestión y absorción de la dieta y por consecuencia una TCA menos eficiente. Esto podría explicar los resultados encontrados en la presente investigación, donde los tratamientos Al24h y Al48h presentaron los mejores valores de TCA y TEP. Es decir que tuvieron mayor aprovechamiento del alimento consumido, aun siendo estos los tratamientos que menos alimento consumieron (i.e., valores más bajos de AC (g.pez<sup>-1</sup>)), por lo que se respalda el supuesto de que los peces que son alimentados con menos frecuencia pueden adaptarse a tales condiciones, aumentando su capacidad de digestión y absorción de los nutrientes en dieta, resultando en un mayor aprovechamiento del alimento consumido.

Los resultados del presente estudio sugieren que para los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*) cultivados bajo las condiciones anteriormente descritas, la frecuencia de alimentación más eficiente es la de Al48h (i.e., una alimentación cada 48 horas). Esto se basa principalmente en que este tratamiento presentó mejor eficiencia alimenticia, tanto en TCA y TEP, es decir, que, aunque no presentó un mayor desempeño biológico con respecto a los demás tratamientos, este sí presentó mayor aprovechamiento del alimento (ver tablas 4 y 5). De hecho, el tratamiento de una alimentación cada 24 horas (Al24h) no presentó diferencias significativas con respecto a este tratamiento en cuanto a eficiencia alimenticia y reducción de costos de alimentación, sin embargo, la frecuencia de alimentación óptima, no solo se enfoca en la reducción de costos, sino en el aumento en la eficiencia de utilización del alimento consumido.

En contraste, otros estudios han observado que una mayor frecuencia de alimentación resulta en los valores más altos de alimento consumido, pero sin afectar la eficiencia alimenticia, como lo obtenido en la doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) (Guerra-Grandez *et al.*, 2009), el pez de bandas oscuras (*Sebastes inermis*) (Oh *et al.*, 2018) y la tilapia azul (*OreochromIs aureus*) (Vega-Villasante *et al.*, 2011). Esto pudiera deberse a que los peces fueron alimentados con la cantidad y calidad necesaria de alimento, manteniendo su eficiencia alimenticia. En lo que respecta a los índices corporales evaluados en el presente estudio, la frecuencia de alimentación no los afectó significantemente. Esto concuerda con lo reportado para la lobina europea (*Dicentrarchus labrax*) (Güroy *et al.*, 2006) y la lucioperca (*Sander lucioperca*) (Zakęś *et al.*, 2006).

# 5.2 Coeficientes de Digestibilidad Aparente

Los valores obtenidos de digestibilidad aparente (CDA) en las dietas, indican que la frecuencia de alimentación no afectó significativamente la digestión de la dieta, pero si la de los nutrientes. Por ejemplo, los valores de digestibilidad de las proteínas y lípidos indican que, a menor frecuencia de alimentación mayor digestibilidad aparente de proteínas, pero menor la de los lípidos. Estos resultados sugieren que la frecuencia de alimentación si afecta la capacidad de utilización de estos dos nutrientes esenciales, pudiendo afectar directamente procesos de absorción y/o digestión. Donde el tratamiento Al48h tuvo mayor digestibilidad de la proteína, esto concuerda con lo obtenido en los resultados de TCA y TEP, donde se observó una mayor eficiencia de la utilización de la proteína consumida, es decir que, aunque estos peces consumieron menor cantidad de alimento y por ende menor proteína, lograron aprovechar mejor la menor cantidad de proteína para sus procesos anabólicos y utilizarla más eficientemente en generar tejido muscular. Los resultados de CDA de las proteínas ayudan a explicar los resultados de TCA y TEP mencionados anteriormente, donde una baja frecuencia de alimentación, resulta en un mayor intervalo entre alimentos, aumentando el tiempo de residencia del bolo alimenticio en el tacto digestivo y una mejor digestión y aprovechamiento de los nutrientes.

Los estudios de digestibilidad son utilizados para determinar la capacidad que tiene el organismo en digerir y absorber los nutrientes, y es fundamental para mejorar su eficiencia alimenticia, ya que, a una mayor digestibilidad, se tiene mayor aprovechamiento del alimento. Sin embargo, se ha encontrado que estos valores son especie-específicos, y a su vez pueden variar por la frecuencia de alimentación, la talla, edad, temperatura del agua, método de recolección de las heces y calidad de la dieta suministrada (Valbuena-Villareal *et al.*, 2012). Por ejemplo, Moreno (2024) reportó para la lobina rayada (*M. saxatilis*) cultivada

bajo condiciones similares, los coeficientes de digestibilidad de la dieta que van desde 69 a 78%. Estos valores son mayores a los resultados obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, los valores de CDA de la dieta del presente estudio son similares a los CDA reportados por Nogueda-Torres y Lazo (2024) para la misma especie (51 a 69 %). Sin embargo, es importante mencionar que Moreno (2024) no utilizó un alimento comercial como en nuestro caso, si no que elaboraron dietas experimentales específicas para esta especie (y aparénteme más eficientes), formuladas para cubrir los requerimientos nutricionales de la lobina rayada cultivada en agua de mar a 21°C, basándose en los resultados de Nogueda-Torres y Lazo (2024) para la misma especie. La importancia de elaborar dietas que cubran los requerimientos nutricionales óptimos de la especie radica en que existirá un uso eficiente de proteínas y lípidos, ya que esto influirá en procesos digestivos y absorción de nutrientes. Este autor confirmo que un nivel lipídico de 11 % en la dieta de M. saxatilis era suficiente para cubrir sus requerimientos lipídicos, y confirmó que un exceso de lípidos reduce la ingesta de alimento y la eficiencia digestiva de los peces, sobrecargándolo y reduciendo la capacidad de absorber nutrientes de manera más eficiente. Basándonos en estos resultados, la dieta utilizada en la presente investigación (la dieta comercial EWOS 54:14 P:L) no fue tan eficiente para la M. saxatilis cultivada en agua de mar a 21°C, ya que contenía un 14% de lípidos y una relación P:L más alta del recomendado (44:12) por Nogueda-Torres y Lazo (2024). Esto sugiere que esta dieta (EWOS®) disminuyó la capacidad digestiva de los peces y la relación entre nutrientes no era la más adecuada.

# 5.3 Análisis proximales del músculo

En cuanto a la composición bioquímica del músculo de los juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*), se encontró que la frecuencia de alimentación afectó directamente los porcentajes de proteína y lípidos, observándose que a mayor frecuencia de alimentación mayor porcentaje de proteína en el músculo, esto concuerda con lo obtenido para la lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Hassan *et al.*, 2021). En contraste, en la lobina híbrida (*M. saxatilis* × *M. chrysops*) (Liu & Liao, 1999) se encontró que la frecuencia de alimentación no afectó el contenido de proteínas en el músculo.

En lo que respecta al porcentaje de lípidos, en este estudio se encontró que el tratamiento con mayor frecuencia (Al4h), presentó el porcentaje más bajo de lípidos. Aunque este resultado concuerda con lo reportado para el pez roca coreano (*Sebastes schlegeli*) (Mizanur & Bai, 2014), no concuerda con lo reportado para la lobina híbrida (*M. saxatilis* × *M. chrysops*) (Liu & Liao, 1999), la lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Hassan *et al.*, 2021) y el pez de bandas oscuras (*Sebastes inermis*) (Oh *et al.*, 2018), donde se

menciona que con una alta frecuencia de alimentación se observa una mayor acumulación de lípidos en el músculo debido al aumento de la actividad lipogénica, es decir que las altas frecuencias de alimentación causan cambios metabólicos, donde el excedente de energía se acumula como reservas de lípidos. Esto puede deberse que, al aumentar la frecuencia de alimentación, se reduce la competencia por la comida reduciendo los gastos energéticos, aumentando el almacenamiento de lípidos, sin embargo, es importante mencionar que estos cambios metabólicos pueden variar entre especies.

# 5.4 Expresión génica

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que la frecuencia de alimentación tiene un efecto significativo en la expresión de los genes orexina y leptina en juveniles de lobina rayada (*M. saxatilis*). Este hallazgo es consistente con investigaciones previas que han demostrado que los hábitos alimenticios influyen directamente en la expresión de genes relacionados con la regulación del apetito en peces teleósteos (Volkoff *et al.*, 2003; Picha *et al.*, 2008; Murashita *et al.*, 2008; Yokobori *et al.*, 2011; Amiya *et al.*, 2012; Tinoco *et al.*, 2012; Won *et al.*, 2012; Volkoff, 2016; Bertucci *et al.*, 2019).

#### 5.4.1 Orexina

Se ha demostrado la función orexigénica de la orexina en mamíferos, ya que regula la ingesta de alimento, no obstante, la participación de este neuropéptido en peces teleósteos no ha sido estudiada tan ampliamente (Yokobori *et al.*, 2011), y actualmente no hay evidencia directa de la participación de la orexina en la regulación del apetito en la lobina rayada (*M. saxatilis*) sometida a diferentes frecuencias de alimentación. Nuestros resultados sugieren variaciones en la expresión relativa de la orexina en el cerebro, en función de la alimentación (*antes* de ser alimentados) y la frecuencia en la que fueron alimentados. Donde el tratamiento Al48h mostró los valores más altos de orexina, siendo diferente con respecto a los peces de los demás tratamientos. Este resultado sugiere que la orexina sí responde a cambios en la frecuencia de ingesta de alimento. Esto respalda la idea de que este neuropéptido tiene un papel importante en la regulación del comportamiento alimentario en peces. En este contexto, estudios previos han encontrado que la expresión de la orexina en el cerebro se encuentra directamente influenciada por la privación del alimento, este comportamiento se ha visto en algunas especies de peces, tal y como en el pez cebra (*Danio rerio*) (Yokobori *et al.*, 2011), en la platija barfin (*Verasper moseri*) (Amiya *et al.*, 2012), y

el pez dorado (*Salminus brasiliensis*) (Volkoff *et al.*, 2016), donde los niveles de expresión aumentaban al someterse al ayuno. Lo que apoya nuestros hallazgos de que la orexina en *M. saxatilis* responde a cambios en la disponibilidad del alimento. Esto establece que el cerebro es uno de los principales tejidos productores de orexina en los peces teleósteos, por lo que la orexina, actúa como un regulador orexigénico durante la privación de alimento.

Si bien, los valores de expresión de orexina no se vieron afectados disminuyendo su expresión *después* de comer (Figura 11, expresión *antes* vs *después* de alimentarse), sugiere que los peces seguían presentando hambre *después* de ser alimentados, aunque los datos presentaron ausencia de diferencias significativas *antes* vs *después* de la alimentación en cada tratamiento, estos resultados sugieren que la expresión de la orexina podría estar actuando a largo plazo, en lugar de reflejar cambios inmediatos dependientes de la ingesta de alimento, recordando que las muestras *después* de alimentar fueron tomadas una hora después de ser alimentados. Si bien esto podría refutarse por Volkoff *et al.* (2016) en el pez dorado (*Salminus brasiliensis*), donde se encontró que la expresión cerebral de la orexina está involucrada en la regulación a largo y a corto plazo de la alimentación y el apetito, debido que mostró cambios prepandiales (antes de ingerir alimentos) y posprandiales (después de ingerir alimentos).

### 5.4.2 Leptina

En mamíferos, se ha demostrado que la leptina desempeña un papel crucial en la regulación del apetito, inhibiendo las vías orexigénicas responsables de estimular el apetito y activando las vías anorexigénicas que lo suprimen. Además, la evidencia sugiere que la leptina actúa como un mediador clave al transmitir información sobre el estado energético del cuerpo al cerebro, desempeñando un papel fundamental en el control del apetito. Sin embargo, el conocimiento sobre la regulación de la leptina en función del estado nutricional en peces es aún limitado, y equivoco, lo que subraya la necesidad de realizar investigaciones adicionales en este campo (Volkoff et al., 2003; Murashita et al., 2008; Won et al., 2012).

En lo que respecta a la expresión de leptina en hígado, en este estudio se encontraron diferencias significativas *antes* y *después* de la alimentación en los peces del tratamiento Al4h con respecto a los demás tratamientos. Estos resultados respaldan la idea de que la leptina en el hígado tiene un papel importante en la regulación del comportamiento alimentario en peces. Adicionalmente, se encontraron diferencias al momento de comparar la expresión *antes* vs *después* en los peces del tratamiento Al4h, Al12h y Al48h. La evidencia menciona que la leptina al ser un gen anorexigénico (que inhibe el apetito), se esperaría que la

expresión de leptina estuviese disminuida *antes* de comer, y aumentara después de comer, esto debido al control del apetito, ya que se interpreta que *antes* de comer los niveles son bajos, indicando hambre en el pez, esto debido a que tiene reservas energéticas insuficientes, mientras que después de comer la expresión de leptina debe ser alta ya que tiene suficientes reservas, es decir que el pez se siente saciado. Nuestros resultados indican que la leptina podría ser un regulador a corto plazo de la ingesta alimentaria en *M. saxatilis* en el hígado.

Estos resultados concuerdan por lo reportado en la lobina hibrida (*M. saxatilis* × *M. chrysops*) (Won *et al.*, 2012), donde se encontró que la expresión de la leptina hepática fue sensible al estado nutricional, ya que disminuyo su expresión en ayuno y aumento cuando los peces fueron alimentados. Y a su vez estos resultados concuerdan con lo reportado en el pez dorado (*Carassius auratus*) (Tinoco *et al.*, 2012), ya que la leptina indicó cambios a corto plazo en la ingesta de alimentos en el hígado, aunque fueron valores independientes de las condiciones de ayuno y alimentación, esto solamente indica que la hormona también tiene acciones pleitópicas en peces, es decir que es multifuncional. Dicho lo anterior, esto concuerdan por lo reportado para la carpa común (*Cyprinus carpio*) (Huising *et al.*, 2006), ya que no se presentaron cambios significativos en la expresión génica de la leptina en el hígado a corto plazo con un ayuno prolongado, incluso en respuesta a la realimentación, lo que podría sugerir una falta de correlación entre el estado nutricional y la regulación de la leptina.

Si bien, en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Murashita *et al.*, 2008) y en la lobina rayada (*M. saxatilis*) (Won *et al.*, 2012), la expresión de la leptina se dio exclusivamente en el hígado, lo que sugiere que este órgano podría ser el principal sitio para la expresión de esta hormona en peces. Esta hipótesis se sustenta con el hecho de que el hígado es un órgano clave en el almacenamiento de lípidos, ya que leptina es producida principalmente en los adipocitos (Won *et al.*, 2012). En lo que respecta en la carpa común (*Cyprinus carpio*) aunque se encontró una mayor expresión de la leptina en el hígado, aunque no fue el único tejido en el que se expresó (Huising *et al.*, 2006). Por lo que es imprescindible aclarar que se desconoce la diferencia putativa entre la ubicación, la función y la regulación del gen de la leptina en peces (Tinoco *et al.*, 2012). Así mismo, actualmente se desconoce si la leptina es producida en proporción al contenido de lípidos hepáticos o a la masa adiposa en los peces (Won *et al.*, 2012).

En la expresión de leptina en el intestino no mostró variaciones significativas *antes* de la alimentación, si mostró diferencias *después* de la alimentación, especialmente en el tratamiento Al4h con respecto al Al12h, lo que sugiere que la leptina podría estar respondiendo a la ingesta de alimento o a cambios en el estado nutricional previo. Lo que sugiere que la leptina en el intestino podría tener un papel modulador

en la regulación de la saciedad y el metabolismo. Adicionalmente, se encontraron diferencias al momento de comparar la expresión *antes* vs *después* en el intestino, encontrando una regulación en la expresión de la leptina en los peces de los tratamientos Al4h y Al48h, este comportamiento sugiere que la leptina actúa como una señalización a corto plazo en la saciedad, estos resultados concuerdan en lo reportado en la expresión de leptina en el hígado (Figura 14), si bien la falta de diferencias estadísticas en el tratamiento Al12h, puede indicar que la expresión de leptina en hígado es más sensible que la expresión en el intestino.

Por su parte, Tinoco *et al.* (2012) hacen mención de que el aumento postprandial (*después* de comer) de la expresión de la leptina, puede también ser provocado indirectamente por la acción de otras hormonas anorexigénicas, tal y como la insulina. Así mismo se ha descrito a la leptina como una hormona multifuncional, ya que también participa en la función inmunológica, reproductiva y en la homeostasis energética. No obstante, el papel de la leptina en el equilibrio energético sigue sin estar claro en los peces teleósteos (Won *et al.*, 2012). Por lo que dichos niveles de leptina pueden variar conforme varía el estado nutricional (Volkoff *et al.*, 2003). Por todo esto, es importante que al interpretar los resultados de la expresión génica de la leptina también se debe considerar las diferencias especificas entre especies y condiciones experimentales. Nuestros resultados al igual que lo reportado por otros autores, sugieren que la expresión de la leptina puede ser dependiente de su estado de alimentación, y actuar como una señalización a largo corto.

## 5.5 Costos de alimentación

Se ha demostrado que la frecuencia óptima reduce los costos operativos, incrementando las ganancias y reduciendo la contaminación del agua mejorando la calidad del medio ambiente (Hassan *et al.*, 2021). Debido a que los costos de alimentación pueden representar hasta el 70% del gasto operativo en los sistemas de cultivo, la rentabilidad depende en gran medida tanto de la frecuencia de alimentación como de la calidad del alimento (Aderolu *et al.*, 2010), ya que los productores necesitan optimizar los costos de alimentación para mantener precios competitivos dentro del mercado.

En nuestros resultados se encontró que la frecuencia de alimentación afectó directamente el consumo de alimento, por consecuencia se afectaron los costos de kilogramo de lobina producida, donde a mayor frecuencia de alimentación mayor es el costo de alimentar a los organismos, estos resultados concuerdan por lo reportado en la lobina asiática (*Lates calcarifer*) (Hassan *et al.*, 2021) y pez gato africano (*Clarias*)

gariepinus) (Aderolu *et al.*, 2010), dónde la mayor frecuencia de alimentación presentó mayor costo de producción. Estos costos están directamente relacionados con el consumo de alimento AC (g.pez<sup>-1</sup>), ya que se ha registrado que una mayor frecuencia de alimentación existe una mayor ingesta de alimento, pero también con la tasa de conversión alimenticia (TCA).

Los resultados obtenidos sugieren que la alimentación cada 48 horas (Al48h) es una estrategia rentable para el cultivo de lobina rayada (*M. saxatilis*) en agua marina bajo nuestras condiciones de cultivo, ya que los peces mostraron el mejor aprovechamiento del alimento (ver Tabla 4). Tsevis (1992) señala que para determinar una frecuencia óptima de alimentación es fundamental considerar diversos aspectos, tanto fisiológicos como económicos, dependiendo del objetivo específico de la unidad acuícola.

Sin embargo, cabe destacar que actualmente la lobina rayada se cultiva a una temperatura subóptima de aproximadamente 16 °C, lo cual podría influir en los parámetros fisiológicos y metabólicos de los peces. Dado que nuestras condiciones experimentales se realizaron a 21 °C, sería importante reevaluar estos parámetros bajo las condiciones reales de cultivo a 16 °C para validar si la frecuencia de alimentación propuesta sigue siendo la más adecuada y rentable en ese contexto. Esto permitiría ajustar las estrategias alimenticias de manera más precisa, optimizando el desempeño biológico y económico del sistema de producción.

# Capítulo 6. Conclusiones

Los resultados de esta investigación indican que la frecuencia de alimentación influye significativamente en el desempeño biológico y la eficiencia alimentaria en juveniles de lobina rayada (M. saxatilis). La frecuencia Al4h resultó en la mejor ganancia de peso ( $40.21 \pm 1.63$  g) y tasa de crecimiento (TCE) ( $1.77 \pm 0.04$  %) sin diferencias significativas respecto a Al12h y Al24h, mientras que Al48h optimizó la tasa de conversión alimenticia (TCA) ( $0.91 \pm 0.03$  %) y eficiencia proteica (TEP) ( $2.03 \pm 0.06$  %) con el menor consumo de alimento por pez (AC ( $g.pez^{-1}$ )) ( $28.37 \pm 0.40$  g), pero la menor ganancia en peso. No se observaron efectos en la supervivencia, los índices corporales, ni la digestibilidad de la dieta, pero sí en la composición muscular, donde el tratamiento Al4h mostró mayor porcentaje de proteínas ( $77.63 \pm 1.16$  %) y menor porcentaje de lípidos ( $16.00 \pm 1.21$  %). Estos resultados acentúan la importancia de ajustar la frecuencia de alimentación para maximizar el crecimiento y la eficiencia alimenticia.

En lo que respecta a la expresión de los genes de saciedad (orexina y leptina), estos genes se vieron afectados por la frecuencia de alimentación. En conjunto, los resultados obtenidos refuerzan la idea de que tanto la orexina como la leptina juegan roles clave en la regulación del comportamiento alimentario en la lobina rayada (*M. saxatilis*), y sus respuestas varían en función de la frecuencia y el contexto de la alimentación. Esto sugiere la necesidad de realizar más estudios para comprender mejor los mecanismos exactos por los cuales estos genes regulan el apetito y el metabolismo en esta especie.

Con base en estos resultados, se destaca que la frecuencia de alimentación óptima para la lobina rayada (*M. saxatilis*) cultivada en agua marina a 21°C, depende del objetivo deseado, es decir que, si el objetivo es maximizar el desempeño biológico para juveniles de 20 g, la frecuencia ideal es Al4h (i.e., cuatros veces al día). Así mismo, se podría recomendar alimentar 1 o 2 veces al día (Al12h o Al24h) sin afectar el rendimiento productivo y la eficiencia alimenticia. Sin embargo, si se busca reducir los costos operativos la frecuencia Al48h (i.e., 1 vez cada 48h) es la opción más adecuada.

### **6.1 Recomendaciones**

Limitantes en el estudio de expresión génica de peces:

- 1 En este estudio nos encontramos con limitantes en cuanto a la preservación de las muestras de cerebro, debido a que este órgano se degradó rápidamente. En nuestro caso, la cantidad de ARN fue limitada y variable entre muestras. Por lo que, para futuros estudios, se recomienda seguir otra metodología de preservación (como la utilización de nitrógeno líquido).
- 2 Así mismo, se debe considerar para futuros estudios de expresión génica en lobina rayada (*M. saxatilis*) diseñar primers de referencia específicos, como genes mitocondriales o de otras secciones del ribosoma (i.e. B-actina), debido a que el primer de referencia utilizado (18´ S) dio valores de C<sub>T</sub> muy variados y elevados, ya que tenía muchos transcritos.
- 3 En cuanto a la digestibilidad aparente de la dieta, los resultados podrían estar subestimados debido a una putativa contaminación fuera de nuestro control por óxido de hierro en los sistemas de recirculación acuícola utilizados. Durante el sifoneo de las heces se detectaron unas pequeñas partículas microscópicas que podrían ser este oxido. A pesar de haber retirado meticulosamente una cantidad considerable de estas partículas exógenas, es posible que hayan afectado los valores de CDA resultando en datos subestimados.
- 4 Por último, sería interesante considerar los costos de producción de la empresa no relacionados con el alimento (i.e., costos fijos de producción) para ver cuanto afecta el costo operativo por los días extras que tardaría llevar a 1 kilogramo los peces con la frecuencia Al48h y poder estimar más realísticamente los costos de producción por kilogramo de lobina rayada producida.

## Literatura citada

- Abdo-de la Parra, M.I., Rodríguez-Ibarra, L.E., Ibarra-Castro, L., Martínez-Brown, J.M. & Velasco-Blanco, G. (2020). Efecto de la frecuencia y la hora de alimentación sobre el crecimiento, la eficiencia alimenticia, los índices somáticos y la supervivencia en juveniles de robalo blanco *Centropomus viridis*. *Ciencias Marinas*. 46(3), 155-163. <a href="https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802020000300155&script=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=sci">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=sci">https://www.scielo.org.mx/sci
- Aderolu, A.Z., Seriki, B.M., Apatira, A.L. & Ajaegbo. (2010). Effects of feeding frequency on growth, feed efficiency and economic viability of rearing African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerlings and juveniles. *African Journal of Food Science*. 4(5), 286 290. <a href="https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20103360469">https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20103360469</a>
- Andersen, L.K., Abernathy, J., Berlinsky, D.L., Bolton, G., Booker, M.M., Borski, R.J., Brown, T., Cerino, D., Ciaramella, M., Clark, R.W., Frinsko, M.O., Fuller, S.A., Steve, G., Green, B.W., Herbst, E., Hodson, R.G., Hopper, M., Kenter, L.W., Lopez, F., McGinty, A.S., Nash, B., Parker, M., Pigg, S., Rawles, S., Riley, K., Turano, M.J., Webster, C.D., Weirich, C.R., Won, E., Woods III., L.C. & Reading, B.J. (2021). The status of striped bass, *Morone saxatilis*, as a commercially species for U.S. Marine aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*. DOI: 10.1111/jwas.12812.52;710-730
- Amiya, N., Mizusawa, K., Kobayashi, Y., Yamanome, T., Amano, M. & Takahashi, A. (2012). Food deprivation increases the expression of the Prepro-orexin gene in the hypothalamun of the Barfin flounder *Verasper moseri. Zological science*. 29, 43-48. DOI: 10.2108/zsj.29.43
- Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.). (2005). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist, Washington D.C. Archivo PDF.
- Bar, N. & Volkoff, H. (2012). Adaptation of the physiological, endocrine, and digestive system functions to prolonged food deprivation in fish. In: McCue, M.D. (*Ed.*), Comparative Physiology of Fasting, Starvation, and Food Limitation. 69–89. Springer. DOI: 10.1007/978-3-642-29056-5 6
- Bertucci, J.I., Blanco, M.A., Sundarrajan, L., Rajeswari, J.J., Velasco, C. & Unniappan, S. (2019). Nutrient Regulation of Endocrine Factors Influencing Feeding and Growth in Fish. *Frontiers in Endocrinology*. 10,83. DOI: 10.3389/fendo.2019.00083
- Biswas, G., Thirunavukkarasu, A.R., Sundaray, J.K. & Kailasam, M. (2010). Optimization of feeding frequency of Asian seabass (Lates calcarifer) fry reared in net cages under brackishwater environment. *Aquaculture*. 305, 26–31. DOI:10.1016/j.aquaculture.2010.04.002
- Butt, Z.D., O'Brien, E. & Volkoff, H. (2019). Effects of fasting on the gene expression of appetite regulators in three Characiformes with different feeding habits (*Gymnocorymbus ternetzi, Metynnis argenteus and Exodon paradoxus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part A (227), 105-115. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.10.002
- Cano-Vera, D.A. (2019). Efecto de diferentes raciones alimenticias a partir del requerimiento proteico diario en juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*). [Informe final de servicio social para obtener la licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco]. Repositorio Institucional <a href="https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/25829">https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/25829</a>

- Consejo Mexicano de Promoción de los Productos Pesqueros y Acuícolas (COMEPESCA). (2015). Lobina rayada. Recuperado el 24 de febrero de 2023 de: <a href="https://comepesca.com/especies/lobina-rayada/">https://comepesca.com/especies/lobina-rayada/</a>
- Cho, C.Y. & Kaushik, S.J. (1990). Nutrition energetics in fish: Energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Review of Nutrition and Dietetics*. 61, 32-172. DOI: 10.1159/000417529
- Davis, A.D. & Hardy, R.W. (2022). Chapter 14. Feeding and fish husbandry. In Hardy, R.W. & Kaushik, S.J. (Eds.) 2022. Fish Nutrition (4th ed.). 857-882. Academic Press. <a href="https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819587-1.00015-X">https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819587-1.00015-X</a>
- Dwyer, K.S., Brown, J.A., Parrish, C. & Lall, S.P. (2002). Feeding frequency affects food consumption, feeding pattern and growth of juvenile yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*). *Aquaculture*. 213, 279 292. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00224-7
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Hacia la transformación azul. Roma. https://doi.org/10.4060/cc0461es
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2024). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action. Rome. https://doi.org/10.4060/cd0683en
- Fernández-Urbina, S.M.M. (2024). Efecto del nivel de lípidos en dieta sobre el desempeño biológico, eficiencia alimenticia y calidad nutrimental de juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*). [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California].

  Repositorio

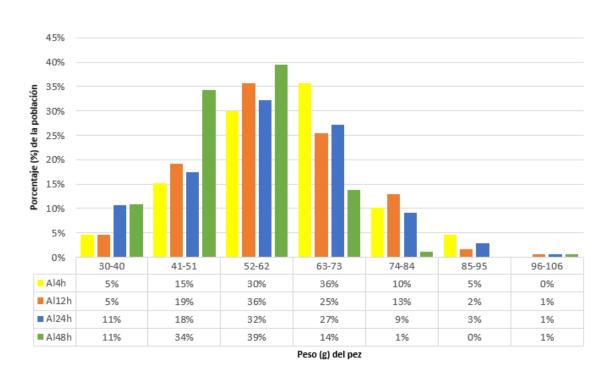
  Institucional https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/4172
- Ganzon-Naret, E.S. (2013). Effects of feeding frequency on growth, survival rate and body composition in sea bass (*Lates calcarifer*) juveniles fed a commercial diet under laboratory condition. *Animal Biology & Animal Husbandry International Journal of the Bioflux Society.* (5)2. <a href="http://www.abah.bioflux.com.ro">http://www.abah.bioflux.com.ro</a>
- Guerra-Grandez, F., Lozano-Ancani, F., García-Dávila, C., Rodríguez-Chu, L., Cubas-Guerra, R., Panduro-Tafur, D. & Chu-Koo, F. (2009). Efecto de tres frecuencias de alimentación en el crecimiento, utilización de alimento y sobrevivencia de juveniles de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). *FOLIA Amazónica*. 18(1-2), 81 87. DOI: 10.24841/fa.v18i1-2.330
- Güroy, D., Deveciler, E., Güroy, B.K. & Tekinay, A.A. (2006). Influence of feeding frequency on feed intake, growth performance and nutrient utilization in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets. *Turkis Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 30, 171-177. https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol30/iss2/4/
- Hassan, H.U., Ali, Q.M., Khan, W., Masood, Z., Abdel-Aziz, M.A., Shah, M.I.A., Gabol, K., Wattoo, J., Chatta, A.M., Kamal, M., Zulfiqar, T. & Hossain, M.Y. (2021). Effect of feeding frequency as a rearing system on biological performance, survival, body chemical composition and economic efficiency of Asian Seabass *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) reared under controlled environmental conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*. *28*(12), 7360-7366. <a href="https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.031">https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.031</a>
- Huising, M.O., Geven, E.J.W., Kruiswijk, C.P., Nabuurs, S.B., Stolte, E.H., Spanings, F.A.T., Verburg-van-Kemenade, B. M. L. & Flik, G. (2006). Increased leptin expression in Common Carp (*Cyprinus carpio*) after food intake but not after fasting or feeding to satiation. *Endocrinology.* 147(12), 5786 –5797. DOI: 10.1210/en.2006-0824

- Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura (INAPESCA). (2022). Carta Nacional Acuícola 5ta versión. DOF. Recuperado el 10 de diciembre del 2023 de: <a href="https://www.gob.mx/inapesca/documentos/carta-nacional-acuicola-5ta-version">https://www.gob.mx/inapesca/documentos/carta-nacional-acuicola-5ta-version</a>
- Liu, G.F. & Liao, I.C. (1999). Effect of Feeding Regimen on the Food Consumption, Growth, and Body Composition in Hybrid Striped Bass *Morone saxatilis* x *M. chrysops. Fisheries Science*. 65(4), 513-519. DOI: 10.2331/FISHSCI.65.513
- Madrid-Hernández, J. (2019). Estimación del perfil de aminoácidos óptimo para el mayor crecimiento y eficiencia alimenticia en juveniles de Totoaba (*Totoaba macdonaldi*). [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio Institucional <a href="https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2777">https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2777</a>
- Mayoral-Noriega, D.E. (2024). Indicadores de estrés y desempeño biológico de juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*) en agua marina: efecto de la densidad de cultivo y color del tanque. [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio Institucional <a href="https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/4054">https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/4054</a>
- Mizanur, R.M. & Bai. S.C. (2014). The Optimum Feeding Frequency in Growing Korean Rockfish (*Sebastes schlegeli*) Rearing at the Temperature of 15°C and 19°C. *Asian-Australas J Anim Sci.* 27(9), 1319-1327. DOI: 10.5713/ajas.2014.14193
- Montaño-Vargas, J., Shimada, A., Vásquez, C., Viana, M. (2002). Methods of measuring feed digestibility in the green abalone (*Haliotis fulgens*). Aquaculture. 213(1-4), 339-346. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00020-0
- Murashita, K., Uji, S., Yamamoto, T., Rønnestad, I. & Kurokawa, T. (2008). Production of recombinant leptin and its effects on food intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part B 150, 377–384. DOI:10.1016/j.cbpb.2008.04.007
- Nadermann, N., Seward, R. & Volkoff, H. (2019). Effects of potential climate change -induced environmental modifications on food intake and the expression of appetite regulators in goldfish. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part A 235, 138–147. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.06.001
- Nogueda-Torres, E., & Lazo, J. P. (2024). The effect of protein to lipid ratios on growth, digestibility, and feed utilization of striped bass (*Morone saxatilis*) raised in seawater at 21°C. *Aquaculture International*. <a href="https://doi.org/10.1007/s10499-024-01639-5">https://doi.org/10.1007/s10499-024-01639-5</a>
- Ni, M., Liu, M., Lou, J., Mi, G., Yuan, J., & Gu, Z. (2021). Stocking density alters growth performance, serum biochemistry, digestive enzymes, immune response, and muscle quality of largemouth bass (Micropterus salmoides) in in-pond raceway system. *Fish Physiology and Biochemistry*. 47(4), 1243-1255. <a href="https://doi.org/10.1007/s10695-021-00948-3">https://doi.org/10.1007/s10695-021-00948-3</a>
- Oh, S. Y. & Maran, B. V. (2015). Feeding frequency influences growth, feed consumption and body composition of juvenile rock bream (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture international*. 23, 175-184. DOI: 10.1007/s10499-014-9806-2
- Oh, S. Y., Venmathi-Maran, B. A. & Park, J. W. (2018). Effect of Feeding Frequency on Growth, Food Consumption, Proximate Composition, and Blood Chemistry of Juvenile Dark-banded Rockfish, Sebastes inermis. Journal of the World Aquaculture Society. 49(6), 994-1001. <a href="https://doi.org/10.1111/jwas.12512">https://doi.org/10.1111/jwas.12512</a>

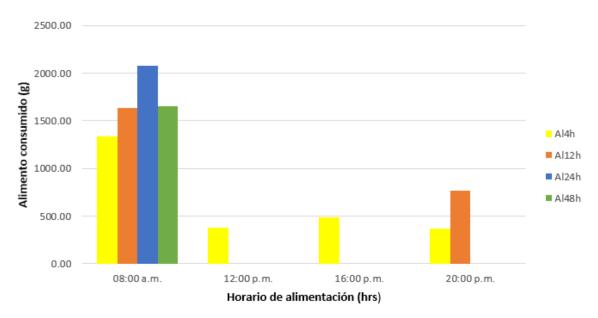
- Oliveira-Tenazoa, J.A. & Delgado-Vargas, O.O. (2019). Efecto de la tasa y frecuencia de alimentación en el crecimiento de alevinos de *Arapaima gigas* (Curvier, 1829) "paiche", cultivados en tanques circulares. [Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos, Perú]. Repositorio institucional <a href="https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6171">https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6171</a>
- Picha, M.E., Strom, C.N., Riley, L.G., Walker, A.A., Won, E.T., Jonhstone, W.M. & Borski, R.J. (2008). Plasma ghrelin and growth hormone regulation in response to metabolic state in hybrid striped bass: Effects of feeding, ghrelin and insulin-like growth factor-I on in vivo and in vitro GH secretion. *General and Comparative Endocrinology*. 161; 365–372. DOI:10.1016/j.ygcen.2009.01.026
- Rønnestad, I., Gomes, A.S., Murashita, K., Angotzi, R., Jönsson, E. & Volkoff, H. (2017). Appetite-Controlling Endocrine Systems in Teleost. *Frontiers in Endocrinology*. 8,73. <u>DOI: 10.3389/fendo.2017.00073</u>
- Schuster, R. (1988). Determination of amino acids in biological, pharmaceutical, plant and food samples by automated precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* 431, 271–284. <a href="https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)83096-0">https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)83096-0</a>
- Schmittgen, T.D. & Livak, K.J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative  $C_T$  method. *NATURE PROTOCOLS*. 3 (6), 1001-1008. DOI: 10.1038/nprot.2008.73
- Spieler, R. E. (2000). Revisión sobre ritmos circadianos, frecuencia de alimentación y crecimiento en peces. En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. & Cruz-Suárez, L.E. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. 220-236. https://nsuworks.nova.edu/occ\_facpresentations/66/
- Taşbozan, O.B., Emre, Y., Gökçe, M.A., Erbaş, C., Özcan, F. & Kivrak, E. (2016). The effects of different cycles of starvation and re-feeding on growth and body composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). Journal of Applied Ichthyology. 32: 583-588. DOI: 10.1111/jai.13045
- Tinoco, A.B., Nisembaum, L.G., Isorna, E., Delgado, M.J. & de Pedro, N. (2012). Leptins and leptin receptor expression in the goldfish (*Carassius auratus*). Regulation by food intake and fasting/overfeeding conditions. *Peptides*. 34, 329–335. DOI:10.1016/j.peptides.2012.02.001
- Tsevis, N., Klaoudatos, S. & Conides, A. (1992). Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns. *Aquaculture*. 101, 293-304. DOI: 10.1016/0044-8486(92)90032-G
- Van Keulen, J., Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in rumiant digestibility studies. *Journal of Animal Science*. 44(2), 282–287. <a href="https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x">https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x</a>
- Vázquez-Vera, L., Garza-de Yta, A., Pozas-Franco, A.L., Torres-Origel, J.F., Walther-Mendoza, M. & Montelongo, A. (2022). Capítulo 1; Situación de la acuacultura en México. En Vázquez-Vera, L. & Chávez-Carreño (Eds.) 2022. Diagnóstico de la acuacultura en México. Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza, A.C. México. 14-47. <a href="https://fmcn.org/uploads/publication/file/pdf/Libro%20Acuacultura\_2022.pdf">https://fmcn.org/uploads/publication/file/pdf/Libro%20Acuacultura\_2022.pdf</a>
- Vega-Villasante, F., Rojas-Sahagún, C.C., Espinosa-Chaurand, L.D., Zuñiga-Medina, L.M. & Nolasco-Soria, H. (2011). Efecto de la frecuencia de alimentación sobre el crecimiento y supervivencia de

- *Oreochromis aureus* en cultivos experimentales. *Revista electrónica de Veterinaria.* 12(6): 1-13. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63622160009
- Volkoff, H., Eykelbosh, A.J. & Peter, R.E. (2003). Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. *Brain Research*, 972; 90–109. doi:10.1016/S0006-8993(03)02507-1
- Volkoff, H., Sabioni, R.E. & Cyrino, J.E. (2016). Appetite regulating factors in dourado, *Salminus brasiliensis*: cDNA cloning and effects of fasting and feeding on gene expression. *General and Comparative Endocrinology.* 237, 34–42. DOI: 10.1016/j.ygcen.2016.07.022
- Won, E.T., Baltzelgar, D.A., Picha, M.E. & Borski, R.J. (2012). Cloning and characterization of leptin in a Perciform fish, the striped bass (*Morone saxatilis*): Control of feeding and regulation by nutritional state. *General and Comparative Endocrinology.* 178: 98–107. <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.04.019">http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.04.019</a>.
- Yokobori, E., Kojima, K., Azuma, M., Kang, K. S., Maejima, S., Uchiyama, M., & Matsuda, K. (2011). Stimulatory effect of intracerebroventricular administration of orexin A on food intake in the zebrafish, *Danio rerio. Peptides*, 32(7), 1357–1362. DOI: 10.1016/j.peptides.2011.05.010
- Zakęś, Z., Kowalska, A. Czerniak, S. & Demska-Zakęś, K. (2006). Effect of feeding frequency on growth and size variation in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). *Czech J. Anim. Sci.*, 51, (2): 85–91. DOI: 10.17221/3914-CJAS

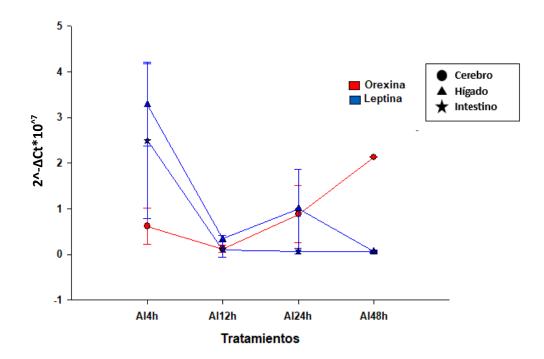
## **Anexos**



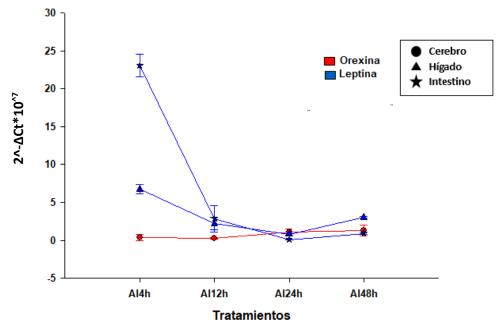
**Figura 19.** Distribución de frecuencias de pesos de los juveniles de *M. saxatilis* en los tratamientos al final del bioensayo de alimentación (día 56). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.



**Figura 20**. Alimento total consumido de los juveniles de *M. saxatilis* en los diferentes horarios de alimentación. Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.



**Figura 21.** Expresión de génica de orexina y leptina, en los diferentes tejidos evaluados de los peces *antes* de ser alimentados. Estos datos muestran la regulación del hambre con respecto al control orexígenico (orexina) y anorexígenico (leptina). Ante una alta expresión de orexina (peces con hambre), esto se relaciona con una baja expresión de leptina (peces no saciados). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.



**Figura 22.** Expresión de génica de orexina y leptina, en los diferentes tejidos evaluados de los peces *después* de ser alimentados. Estos datos muestran la regulación del hambre con respecto al control orexígenico (orexina) y anorexígenico (leptina). Ante una baja expresión de orexina (peces sin hambre), esto se relaciona con una alta expresión de leptina (peces saciados). Al4h= una alimentación cada 4 horas 4 veces al día. Al12h= una alimentación cada 12 horas dos veces al día. Al24h= una alimentación cada 24 horas. Al48h= una alimentación cada 48 horas.