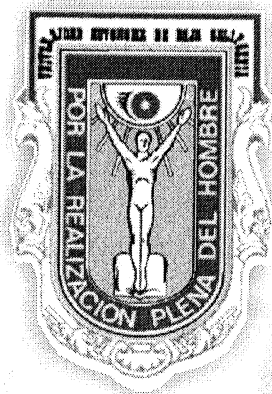


Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Marinas
Instituto de Investigaciones Oceanológicas



“Utilización de harina de pescado tratada
con formaldehído para determinar
el requerimiento proteico en juveniles
de Corvina Blanca (*Atractoscion nobilis*)
en condiciones de cultivo”.

Tesis
que para obtener el grado de maestra en ciencias

Presenta:
Ana del Carmen Cruz Hernández

Ensenada, Baja California México, agosto de 2007

**"UTILIZACIÓN DE HARINA DE PESCADO TRATADA CON FORMALDEHIDO
PARA DETERMINAR EL REQUERIMIENTO PROTEICO EN JUVENILES DE
CORVINA BLANCA
(*Atractoscion nobilis*) EN CONDICIONES DE CULTIVO"**

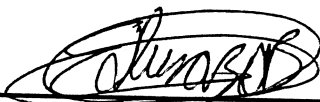
T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

Presenta:

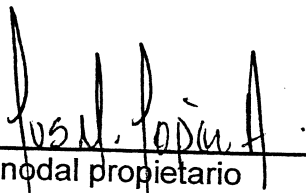
ANA DEL CARMEN CRUZ HERNÁNDEZ

Aprobada por:



Director de tesis

Dr. Eduardo Durazo Beltrán



Sinodal propietario

Dra. Lus Mercedes López Acuña



Sinodal propietario

Dra. María Teresa Viana Castrillón



Sinodal propietario

M.C. Conal David True



Sinodal propietario

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, el M.C. Conal David True; por brindarme su amistad, apoyo y alentarme en todo momento.

A la Universidad Autónoma de Baja California por ser la institución donde me he formado académica y profesionalmente

A la Unidad de Biotecnología en Piscicultura por abrirme las puertas para desarrollar la fase experimental y análisis del presente estudio.

A Mark Drawbridge y al Hubbs Sea World Research Institute por brindar su apoyo y donar los peces para la realización del presente estudio.

Al M.C. Gerardo Sandoval, M.C. Eduardo Talamás y Ocean. Iván Monay por su apoyo, amistad y ayuda técnica en el desarrollo del bioensayo.

A Denise Lubinsky Jinich y Rafael Sánchez Álvarez porque colaboraron con dedicación en diversas etapas del trabajo.

Al proyecto No. 206 de SAGARPA-CONACyT “Estudio de los requerimientos proteicos y de energía en alevines y juveniles de corvina blanca, *Atractoscion nobilis*”.

Al Dr. Eduardo Durazo Beltrán por su guía, apoyo, amistad y consejos que han ayudado en mi formación y crecimiento profesional.

A la Dra. Lus López Acuña por su apoyo, consejo y amistad.

A la Dra. María Teresa Viana Castrillón por compartir su conocimiento conmigo

Al Dr. Juan Pablo Lazo Corvera por abrirme las puertas de su laboratorio y brindarme su amistad y apoyo en el análisis de la tesis.

A la maestra Consuelo Valle por su valiosa colaboración en el desarrollo de los cálculos matemáticos del trabajo

A Magaly, Ruth y Emanuel por su apoyo y amistad en las pruebas realizadas.

A Ana Luisa, Alejandra, Mario, Diana y Abraham por su amistad y compañía durante las horas de trabajo en el laboratorio.

A Beto, por su amor, apoyo incondicional y por compartir conmigo esta importante etapa de mi vida.

A mis queridos hijos Alberto y Ricardo, por ser el motor que me impulsa para salir adelante les agradezco su cariño, apoyo y paciencia a lo largo de mis estudios

A mis papás Ana y Sergio, por su apoyo y palabras de aliento que me han nutrido para continuar mis estudios.

A la familia Bernal Calderón que me han brindado todo su apoyo durante estos años.

A mis queridos hermanos Yelní, Sergio y Yahvé, por su cariño, consejo y apoyo incondicional. Gracias.

A mis sobrinos Tonahlli, Regina y Tenoch por brindarme su cariño, su alegría y hacer que en un instante las cosas se vean más bonitas.

A todos aquellos que de alguna manera han contribuido a la realización del presente trabajo. Gracias.

A toda mi familia que los llevo en mi corazón

A la vida misma, que es un regalo extraordinario.

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado con todo mi amor

A Alberto y Ricardo, pequeños maravillosos que son la luz de mi vida

A Alberto, compañero inseparable de mi vida

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

RESUMEN

“UTILIZACION DE HARINA DE PESCADO TRATADA CON FORMALDEHIDO PARA DETERMINAR EL REQUERIMIENTO PROTEICO EN JUVENILES DE CORVINA BLANCA (*Atractoscion nobilis*) EN CONDICIONES DE CULTIVO”.

Maestro en Ciencias

Ana del Carmen Cruz Hernández

En la selección de métodos para estudiar el efecto de la ingestión proteica sobre el crecimiento de peces es necesario considerar sus ventajas y limitantes. Con frecuencia se utilizan dietas con diferentes niveles de proteínas lo cual influye en el balance de la formulación y posiblemente afectan el crecimiento. Esta investigación se realizó para estudiar el requerimiento proteico en peces, utilizando una sola formulación con diferentes niveles de harina de pescado tratada con formaldehído. Se evaluó el efecto del nivel de proteína tratada en el crecimiento y composición química de juveniles de *Atractoscion nobilis*. Se elaboraron dietas isocalóricas con $60.4 \pm 2.2\%$ de proteína cruda y cinco niveles de proteína tratada, mediante la combinación de harina de filete de pescado y harina de filete de pescado tratada con formaldehído (HPT) al 37% (D60, D52, D42, D39, D27). Las dietas se suministraron a peces juveniles (12.08g, 10.9cm) durante 50 días, el crecimiento se evaluó a los 25 y 50 días. En muestras de músculo, hígado y pez completo se analizaron los contenidos de proteína cruda (PC) y lípidos totales (LT); en heces se determinó PC y cenizas insolubles en ácido, para estimar la digestibilidad proteica aparente (DPA). El crecimiento en los tratamientos D60 y D52 no presentó diferencias significativas (0.41 ± 0.04 y 0.40 ± 0.02 g pez⁻¹ día⁻¹, respectivamente); el incremento de HPT produjo menor crecimiento. En promedio la sobrevivencia de los peces fue de 94%. La tasa de conversión alimenticia (TCA) fue menor en el tratamiento D60 (1.15 ± 0.1); con el incremento de HPT, la TCA también incrementó hasta 2.44 ± 0.5 en el tratamiento D27. La PC en músculo fue de 85.5% a 86.6% entre los tratamientos y la concentración de LT en músculo del tratamiento D27 fue diferente a D60, D52 y D42. En hígado no se encontraron diferencias estadísticas en PC y LT entre tratamientos. En pez completo la concentración de PC fue mayor en los organismos del tratamiento D60 y disminuyó con mayor inclusión de HPT. La concentración de LT no mostró ningún patrón específico. El coeficiente de digestibilidad del alimento (CDA) mantuvo una relación inversa con la concentración de proteínas en las heces. La tasa de crecimiento presentó una relación directa con el CDA. La dieta D52 con un contenido de 51.52% de PCNT se asoció a un crecimiento máximo de 0.40 g pez⁻¹ día⁻¹. El cálculo de la DPA requiere el uso de una expresión que considere el contenido de proteína tratada y no tratada en la dieta.

CONTENIDO

1.- Introducción

1.1.- Generalidades de la corvina blanca.....	1
1.2.- Importancia de las proteínas en las dietas balanceadas.....	2
1.3.- Métodos utilizados para determinar el requerimiento proteico.....	5
1.4.- Tratamiento de fuentes proteicas con formaldehído.....	7
1.5.- Objetivo general.....	9
1.6.- Objetivos particulares.....	9

2.- Metodología

2.1.- Elaboración de harina de filete de pescado	10
2.2.- Tratamiento de la harina de pescado con formaldehído.....	10
2.3.- Elaboración de las dietas experimentales.....	10
2.4.- Sistema de cultivo y animales.....	13
2.5.- Biometría.....	14
2.6.- Colecta de heces.....	14
2.7.- Ingestión de alimento.....	14
2.8.- Crecimiento.....	14
2.9.- Supervivencia.....	15
2.10.- Ingestión diaria de alimento y conversión alimenticia	15
2.11.- Análisis químico proximal.....	15
2.12.- Energía bruta.....	16
2.13.-Índice hepatoesomático.....	17
2.14.- Digestibilidad aparente.....	17
2.15.- Análisis estadístico.....	18

3.- Resultados

3.1.- Dietas experimentales.....	20
3.2.- Crecimiento.....	20
3.3.- Ingestión diaria de alimento y conversión alimenticia.....	23

3.4.- Índice hepatosomático.....	24
3.5.- Análisis químico proximal de tejidos.....	24
3.5.1.-Músculo.....	24
3.5.2.-Hígado.....	25
3.5.3.-Pez completo.....	27
3.5.4.- Energía en músculo y pez completo.....	28
3.6.- Digestibilidad aparente.....	29
3.7.- Requerimiento proteico	31
 4.- Discusiones	
4.1.- Tratamiento de la harina de pescado con formaldehído.....	33
4.2.- Crecimiento, ingestión de alimento y tasa de conversión alimenticia..	34
4.3.- Supervivencia.....	35
4.4.- Índice hepatosomático.....	36
4.5.- Análisis químico proximal.....	37
4.5.1.- Músculo.....	37
4.5.2.- Hígado.....	38
4.5.3.- Pez completo.....	39
4.6.- Digestibilidad aparente.....	40
4.7.- Requerimiento proteico óptimo.....	44
 5.- Conclusiones	46
6.- Recomendaciones	47
7.- Literatura citada	48

LISTA DE TABLAS

Tabla I.- Dietas experimentales para alimentación de juveniles de corvina blanca ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)

Tabla II. Proporción de proteína cruda total (PC total), harina de pescado no tratada (HPNT), harina de pescado tratada (HPT), proteína cruda no tratada (PCNT) y proteína cruda tratada (PCT) en las dietas suministradas a juveniles de corvina blanca ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$).

Tabla III.- Composición proximal (en peso seco) y razón energía/proteína de las dietas experimentales ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$).

Tabla IV.- Tasa de crecimiento en peso, en longitud y sobrevivencia de juveniles de corvina blanca durante el bioensayo de alimentación.

Tabla V.- Ingestión diaria de alimento, tasa de conversión alimenticia e índice hepatosomático obtenidos en juveniles de corvina blanca alimentados durante 50 días con diferentes niveles de proteína digestible.

Tabla VI.- Composición proximal de músculo (en peso seco) de juveniles de *Atractoscion nobilis*, después de 50 días de alimentación.

Tabla VII.- Concentración de proteína cruda y lípidos totales en hígado (en peso seco) de juveniles de corvina blanca, sometidos a alimentación con niveles de proteína digestible.

Tabla VIII.- Composición proximal del pez completo (en peso seco) en juveniles de corvina blanca, sometidos a un bioensayo de alimentación con diferentes niveles de harina de pescado tratada.

Tabla IX.- Contenido de energía bruta en el músculo y pez completo, basado en el cálculo teórico a partir de la composición proximal de juveniles de corvina blanca después de 50 días de alimentación.

Tabla X.- Valores promedio del coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) y concentración de proteína cruda en heces, obtenidos en juveniles de *A. nobilis*, durante el bioensayo de alimentación.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Crecimiento en peso (g) de juveniles de corvina blanca alimentados durante 50 días con diferentes niveles de proteína digestible.

Figura 2.- Crecimiento en longitud (cm) de juveniles de *A. nobilis* sometidos a bioensayo de alimentación con 5 niveles de proteína digestible.

Figura 3.- Coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) en juveniles de corvina blanca alimentados con diferentes niveles de proteína tratada.

Figura 4.- Tasa de crecimiento con relación al coeficiente de digestibilidad del alimento (CDA) en juveniles de *A. nobilis* alimentados con 5 niveles de proteína cruda tratada.

Figura 5.- Relación del contenido de proteína no tratada en la dieta y la tasa de crecimiento en peso de juveniles de corvina blanca.

1. INTRODUCCION

1.1 Generalidades de la corvina blanca

La corvina blanca *Atractoscion nobilis* (Ayres) es un pez carnívoro pelágico que en su hábitat natural se alimenta de anchoveta, arenque, sardina, calamar, y cangrejos pelágicos principalmente. Es muy apreciada en la pesca comercial y deportiva en las aguas del Sur de California y Baja California; México (Vojkovich y Reed, 1983), por lo que su pesquería está amenazada. En California se cuenta con un programa de cultivo de *A. nobilis* para repoblación de tal manera que se reporta un incremento en su captura desde 1997 (California Department of Fish and Game, 2002).

El potencial acuacultural de corvina blanca es prometedor ya que se trata de una especie de alto valor comercial, la cual presenta un avance significativo en su biotecnología de cultivo. Actualmente se le cultiva a escala piloto en jaulas, estanques y canales (Kent *et al*, 2001). Su alimentación en dichas condiciones se basa en el uso de dietas comerciales para especies carnívoras, ya que no se han determinado los requerimientos de ésta especie.

A pesar de que existen buenos resultados con dichas dietas, los estudios de los requerimientos nutricionales en corvina blanca, son incipientes y se piensa que pueda incrementarse la eficiencia alimenticia al lograr un mayor conocimiento. López *et al* (en preparación) evaluaron el efecto del nivel de lípidos sobre crecimiento, composición corporal y perfil de ácidos grasos encontrando la máxima ganancia en peso con una dieta formulada al 66.4% de

proteína cruda y 19.4% de lípidos totales. Por otra parte, Kent *et al* (2001) determinaron el máximo crecimiento con una dieta formulada con 55.1% de proteína cruda y 14.2% de lípidos totales, cuando se estudió el efecto de los niveles de carbohidratos-lípidos sobre crecimiento y sobrevivencia de juveniles de *A. nobilis*. López *et al.* (2006) estudiaron la respuesta a diferentes concentraciones de lípidos, en juveniles de esta especie y reportan un máximo crecimiento con 15.5% y 18% de lípidos así como 61.45% de proteína cruda en la dieta. El avance en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de *A. nobilis* permitirá el optimizar su alimentación y contribuir al desarrollo de su cultivo.

1.2 Importancia de las proteínas en las dietas balanceadas

La proteína aparte de ser fundamental como promotor del crecimiento, su alta demanda lo está poniendo como una verdadera limitante. La harina de pescado, la fuente proteica principal en dietas para peces, reporta un precio actual de 1000 dólares por tonelada proyectándose para llegar hasta 1,200 al final de este año. La función de las proteínas es proveer la cantidad y calidad de aminoácidos que son utilizados de manera continua para construir nuevas proteínas en organismos que se encuentran en etapa de crecimiento o bien para reemplazar las existentes. Si el pez se encuentra limitado de dicho nutriente, el crecimiento se reduce o interrumpe. En caso contrario, si la dieta provee proteínas en exceso, sólo una parte será destinada para la construcción de nuevas proteínas y el resto será canalizada como fuente de energía (Wilson,

2002) o no será asimilable. Esto da lugar a la baja eficiencia del alimento e incrementa la carga de desechos nitrogenados al medio (Mc Googan y Gatlin, 1998; Sá *et al.*, 2006). Por lo anterior, se busca el balancear un alimento con la proteína ideal para utilizar sólo la cantidad de aminoácidos necesarios para sus funciones primordiales, dejando mayoritariamente a los lípidos y carbohidratos como fuente de energía.

La digestibilidad de los alimentos es un proceso que se asocia con la transformación que ocurre en el tracto gastrointestinal desde su ingestión hasta la excreción de los residuos que no son asimilados, la cual se lleva a cabo mediante procesos mecánicos, químicos y enzimáticos, haciéndolos solubles y disponibles para su absorción (Lazo y Davis, 2000). Se dice que una proteína es de buena calidad a medida de que los aminoácidos que la constituyen sean susceptibles a la degradación de las enzimas digestivas del propio organismo. A medida que se generen un mayor número de cortes (péptidos), la proteína se considera más digestible. Es necesario remarcar que la proteína es absorbida a lo largo del intestino en su mayoría a manera de aminoácidos libres; de aquí se deriva la importancia de lograr una mayor digestión o rompimiento de la misma (Wilson, 2002). Por otro lado, la mayoría de las enzimas digestivas son selectivas, las cuales rompen enlaces específicos; donde sólo la pepsina encontrada en el estómago es capaz de lograr un rompimiento sin selección (Guillaume, 2001; Rust, 2002). Por esto, la calidad proteica está asociada con su secuencia de aminoácidos. Otro factor importante que determina no la calidad de la proteína pero si su aprovechamiento, es el tiempo de tránsito del

alimento, que constituye el tiempo que tarda el alimento para transitar por el aparato digestivo y la cantidad de enzimas presentes en un momento dado (Rust, 2002). El determinar el aporte óptimo de proteínas en una dieta requiere establecer el balance de aminoácidos disponibles, particularmente los esenciales en la proteína y la proteína susceptible a ser digerida (Wilson, 2002).

En la actualidad, la tendencia en la elaboración de alimentos formulados para acuicultura es mediante el uso de ingredientes de bajo costo; en peces carnívoros se estima un requerimiento proteico en el intervalo de 40 a 50% de proteína cruda, como es el caso de especies como: tambor rojo (Thoman *et al*, 1999); en juveniles del pez roca (Lee *et al*, 2002); en *Pagellus bogaraveo* (Silva *et al.*, 2006); juveniles del lenguado *Pleuronectes americanus* (Hebb *et al*, 2003) y en *Platichthys stellatus* (Lee *et al.*, 2006).

En diversas especies sujetas a cultivo, entre ellas corvina blanca, los requerimientos nutricionales, con relación entre la cantidad de nutrientes que se ingieren a través de la dieta y los que son asimilados, aún se desconoce.

Otra manera de establecer la calidad de las dietas es de acuerdo a la energía digestible derivada de cada nutriente susceptible de ser degradado. Esto es relevante puesto que en general, el consumo de alimento responde a la concentración de energía en la dieta; esto implica que un organismo no ingerirá un mayor contenido de energía al que requiere (Bureau *et al.*, 2002). Dicha energía puede provenir tanto de proteína, de lípidos como de carbohidratos, por lo cual es deseable que el alimento aporte el contenido de energía requerido y todos los nutrientes necesarios para un óptimo crecimiento, de tal forma que la

energía que se emplee en las actividades del organismo, provenga de las fuentes dietéticas de menor costo y no de la proteica. Asimismo se requiere asegurar que el contenido de energía ingerida y digestible sea el adecuado, de lo contrario, el balance podría ser negativo y se generaría un déficit energético (Bureau *et al.*, 2002). Dado lo anterior, es común que se haga referencia a proteína digestible y/o energía digestible.

Es así que gran parte de la investigación en nutrición se dirige a conocer la digestibilidad de los ingredientes y de las dietas formuladas, con el propósito de mejorar el aprovechamiento del alimento para obtener un máximo crecimiento y minimizar el impacto en el medio ambiente.

1.3 Métodos utilizados para determinar el requerimiento proteico

Como parte de los métodos que se utilizan para determinar el requerimiento proteico en peces es común el uso de alimentos formulados en bioensayos de alimentación. Un método muy utilizado es el de dosis-respuesta, en el que se evalúa el crecimiento asociado con el incremento del contenido proteico en la dieta (Chong *et al.*, 2000; Kim y Lall, 2001; Yang *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003). El principio consiste en comparar el crecimiento de varios grupos de peces alimentados con dietas formuladas que contienen niveles crecientes de proteína, donde la composición de las dietas experimentales es controlada rigurosamente (Guillaume *et al.*, 2001). La desventaja de éste método estriba en que el gradiente de concentración proteico de la dieta, usualmente se balancea con la variación de ingredientes no proteicos tales como almidón, dextrina o

celulosa en diferentes cantidades hasta que su nivel es altamente modificado entre las dietas experimentales (Webster y Lim, 2002). En el caso del almidón, la eficiencia de su utilización por especie está asociada a su concentración y su presentación en la dieta (Guillaume *et al*, 2001). Es conocido que la digestibilidad de los carbohidratos en peces carnívoros es más baja que en peces omnívoros, por lo que es necesario el prestar cuidado al contenido de éstos en la dieta. Cuando se estudia el nivel de requerimiento proteico es común utilizar dietas con un intervalo amplio en el contenido de carbohidratos (p. ej. dextrina de 6% a 34%; Lee *et al*, 2003), por lo tanto las diferencias en crecimiento de peces entre tratamientos podría estar también asociado a un exceso de carbohidratos o a cualquier material que se use como “relleno” y no solamente a la baja cantidad de proteína.

Otro método utilizado es el de alimentación restringida, en el cual se alimentan los peces con una sola dieta a diferentes raciones alimenticias, modulando así la cantidad de proteína ingerida (Mc Googan y Gatlin, 1998). Su ventaja estriba en que la dieta es exactamente igual en todos los tratamientos, sin embargo, en ciertas especies se provoca el estrés y roce entre los diversos organismos confinados, resultando imposible controlar la cantidad ingerida por organismo. En el caso de los peces, por ser organismos gregarios que se movilizan en grupos (cardúmenes), se establecen de manera natural las jerarquías sociales cuando están conformados por grupos, por lo que el espacio e ingestión de alimento no son igualmente divididos entre todos los miembros del grupo, y por lo general los individuos dominantes son los que aseguran

primero el acceso a cualquier recurso limitado. Lo anterior trae como consecuencia, no solo el crecimiento heterogéneo de los peces sino también la muerte de los débiles y por ende el sesgo en el crecimiento individual de las especies. Incluso, durante la alimentación con severa restricción del alimento es frecuente el incremento de los actos de agresión (Jobling, 1995).

1.4 Tratamiento de fuentes proteicas con formaldehído.

Una alternativa derivada de estudios de digestibilidad de proteínas de harinas vegetales en bovinos es el tratamiento de éstas con formaldehído, el cual desnaturaliza las proteínas y reduce su degradación ruminal, de acuerdo al tratamiento aplicado las proteínas pueden ser sujetas a una posterior digestión en el intestino delgado (Antoniewicz *et al.*, 1992; Subuh *et al.*, 1996; Miller, 2004). El formaldehído reacciona con la proteína en forma de adición o condensación, en el cual enlaces no iónicos son formados entre el lado activo de la cadena de los grupos de aminoácidos como S-H, -OH, -NH₂, etc. y el grupo carbonilo del formaldehído (-C=O). El formaldehído puede reaccionar con grupos amino y tiol de los aminoácidos para formar derivados metilol, los cuales al condensarse forman iminas o bases de Schiff que a su vez posteriormente pueden reaccionar mediante enlaces cruzados con residuos de aminoácidos como triptófano, glutamina, histidina, arginina, tirosina y cisteína (Metz *et al.*, 2004). La magnitud del efecto depende del ingrediente y el contenido de formaldehído, de modo que altas concentraciones producen una máxima inhibición de proteólisis con una consecuente digestibilidad intestinal reducida

(Antoniewicz *et al.*, 1992; Miller, 2004). En bovinos y aves ésta técnica se ha empleado para calcular la absorción de la proteína que entra en el intestino delgado (Godoy-de León y Chicco, 1992; Susmira *et al.*, 1993; Subuh *et al.*, 1996). El tratamiento químico de fuentes proteicas mediante uso de formaldehído ha mostrado su utilidad en estudios de nutrición en ciencia animal (Kowalczyk *et al.*, 1982; Antoniewicz *et al.*, 1992; Park *et al.*, 1999; Castillo *et al.*, 2001, M'hamed *et al.*, 2001; Miller, 2004). En estudios de digestibilidad de proteínas en peces no se cuenta con trabajos que reporten el uso de dicho procedimiento.

El presente trabajo plantea un enfoque novedoso para conocer los requerimientos proteicos sin necesidad de recurrir a ingredientes de “relleno” con el objeto de balancear los alimentos y que puedan afectar el desempeño de los organismos. Es así que los peces respondan a digerir sólo aquella proteína no tratada y poder determinar los requerimientos proteicos de los organismos. De esta manera, en el presente trabajo, las diferentes proporciones de harina de filete de pescado blanco sin tratamiento químico fueron substituidas por harina de pescado tratada con formaldehído, con el propósito de mantener dietas isoproteicas con diferentes niveles de proteína digestible, sin modificar sus contenidos de lípidos y carbohidratos. Con esta aproximación experimental se espera que el crecimiento, así como el contenido de proteína digestible en las dietas permita estimar el nivel óptimo de proteína requerido para un máximo crecimiento.

1.5 Objetivo General

- ❖ Determinar el nivel de proteína requerido por juveniles de *A. nobilis* para obtener un máximo crecimiento, mediante el uso de dietas balanceadas con diferentes contenidos de proteína digestible sustituida por proteína tratada con formaldehído

1.6 Objetivos particulares

- Evaluar el uso de una proteína tratada con formaldehído para ser utilizada como “relleno” para formular dietas con distinto nivel de proteína digestible en la dieta.
- Evaluar el crecimiento, ingestión de alimento y tasa de conversión alimenticia de juveniles de *A. nobilis* alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible
- Evaluar la composición química del músculo, hígado y pez completo en los peces alimentados con diferentes niveles de proteína digestible.
- Evaluar la digestibilidad aparente del alimento de cada uno de los tratamientos suministrados a juveniles de corvina blanca.

2. METODOLOGIA

2.1 Elaboración de harina de filete de pescado

La harina de pescado se elaboró a partir de filete de pescado blanco sin piel. El proceso de elaboración comprendió la cocción del filete a vapor durante 20 minutos, se exprimió el producto cocido, se desmenuzó y se secó en horno de convección a $60 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas, después del secado el producto se molió y tamizó hasta obtener una harina de 230 micras, la cual se almacenó en bolsas de plástico selladas herméticamente a -20°C .

2.2 Tratamiento de la harina de pescado con formaldehído

El tratamiento de la harina de pescado con formaldehído se efectuó de acuerdo a lo reportado por Antoniewicz *et al.* (1992). El proceso consistió en adicionar por cada 100 g de harina de pescado un volumen de 38 ml de formaldehído al 6.44%, se homogeneizó la mezcla y se dejó reposar en un recipiente impermeable hermético a temperatura ambiente durante 24 horas. Posteriormente el producto se secó a 85°C durante 16 horas. La harina se tamizó a 230 micras y se guardó en un recipiente impermeable hermético a -20°C .

2.3 Elaboración de las dietas experimentales

La formulación de la dieta experimental se presenta en la Tabla I. El contenido de proteína cruda, lípidos totales y energía bruta de la dieta fue

acorde a los sugeridos por Torres (2005) para obtener un máximo crecimiento en juveniles de corvina blanca sometidos a alimentación balanceada durante 50 días. El contenido energético de las dietas se calculó mediante valores de referencia para los contenidos de carbohidratos, proteínas y lípidos (Bureau *et al.*, 2002).

Tabla I. Dietas experimentales para alimentación de juveniles de corvina blanca (g 100g⁻¹).

Ingrediente	D60	D52	D42	D39	D27
Harina de pescado sin tratamiento	48.0	38.4	28.8	19.2	9.6
Harina de pescado tratada	0.0	9.6	19.2	28.8	38.4
Harina de krill	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0
Almidón	15.9	15.9	15.9	15.9	15.9
Gelatina	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Aceite de pescado ^a	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Minerales ^b	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitaminas ^c	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Benzoato de sodio	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
α-tocoferol	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

^a Aceite de menhaden SIGMA

^b Mezcla mineral (g/kg): MgSO₄ · 7H₂O (284g), FeSO₄ (40g), CuSO₄ (26g), MnSO₄ (6.6g), ZnSO₄ (132g), CoCl₂ (0.04g), KI (0.6g), NaSeO₃ (0.02g), Ca(H₂PO₄)₂ (203.2g), tierra de diatomeas (307.54 g).

^c Mezcla para corvina, Roche.

Los tratamientos consistieron en 5 niveles de proteína a partir de una mezcla de harina de pescado sin tratamiento químico (HPNT) y de harina de pescado tratada (HPT). De esta manera se obtuvo la proteína cruda no tratada (PCNT) y la proteína cruda tratada (PCT) (Tabla II).

Tabla II. Proporción de proteína cruda total (PC total), harina de pescado no tratada (HPNT), harina de pescado tratada (HPT), proteína cruda no tratada (PCNT) y proteína cruda tratada (PCT) en las dietas suministradas a juveniles de corvina blanca ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$).

Tratamiento	PC total	HPNT	HPT	PCNT	PCT
D60	60.0	100.0	0.0	60.0	0.0
D52	59.8	80.0	20.0	51.58	8.21
D42	58.4	60.0	40.0	41.97	16.42
D39	64.1	40.0	60.0	39.46	24.63
D27	59.7	20.0	80.0	26.85	32.84

Previo a la elaboración de las dietas la harina de krill, vitaminas y minerales se tamizaron a un tamaño de partícula de 230 micras. El almidón y la gelatina se hidrataron por separado antes de agregarlos a la mezcla. Las harinas de filete de pescado (no tratada y tratada) y de krill, las vitaminas, minerales y benzoato de sodio se mezclaron en una batidora comercial; después se agregó el aceite de pescado con α -tocoferol. Posteriormente se adicionó el almidón y finalmente la gelatina. La mezcla mineral incluyó tierra de

diatomeas como marcador para la determinación de la digestibilidad aparente del alimento. El alimento se peletizó a un tamaño de 5 mm y se secó en una estufa a $57 \pm 3^\circ \text{C}$ por 12 horas. Los pelets se almacenaron en bolsas con cierre hermético a -4°C hasta su uso.

2.4 Sistema de cultivo y animales.

Los juveniles de corvina blanca fueron donados por el Hubbs Sea World Research Institute. Para el desarrollo del bioensayo se utilizaron 375 peces de 72 días de edad después de la eclosión ($12.08 \pm 0.32 \text{ g}$ y $10.9 \pm 0.13 \text{ cm}$), los cuales se colocaron en 15 unidades experimentales de plástico de 65 l. de capacidad, con flujo abierto de 1.5 l min^{-1} de agua de mar filtrada e irradiada con luz UV. El sistema de cultivo fue aislado mediante una cortina plástica, con el fin de mantener a los peces con la mínima interacción posible con el entorno. El cultivo presentó las siguientes condiciones: temperatura promedio de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, la salinidad de 33‰, fotoperíodo 12:12, la limpieza de los estanques se efectuó por sifoneo manual 2 veces al día.

Los juveniles de corvina se sometieron a un período de acondicionamiento de 14 días con la dieta D60. Se utilizó un diseño experimental aleatorio simple. Las dietas se suministraron por triplicado, durante 50 días; proporcionando el 3% de la biomasa total de cada unidad experimental, con una frecuencia de 2 veces al día. Para ajustar la ración alimenticia, cada 10 días se pesaron 10 organismos por unidad experimental.

2.5 Biometría

Los peces se anestesiaron con MS-222 previo a cada biometría. En el día 0, 25 y 50 de la fase experimental, los organismos se pesaron por grupos para reducir el daño físico y se midieron individualmente.

Después de cada biometría, como medida profiláctica, los peces se sometieron durante tres días consecutivos a un baño diario de H_2O_2 (75 $\mu\text{l/l}$) durante 2 horas.

2.6 Colecta de heces

Durante 4 días previos al día 25 y 50 de la fase experimental se colectaron las heces por sifoneo y tamizado en cada unidad experimental en la mañana y tarde; la cantidad de heces colectadas se almacenaron a -20°C para análisis posteriores.

2.7 Ingestión de alimento

El alimento se suministró a los peces 2 veces al día. La alimentación se suspendió cuando de manera visual se apreció que los organismos dejaban de ingerir el alimento. La ración se pesó al inicio y al final del día.

Se registró diariamente durante los 50 días del bioensayo de alimentación.

2.8 Crecimiento

Para su cálculo se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{Incremento en peso (g)} = \text{peso}_{\text{final}} - \text{peso}_{\text{inicial}} \quad (1)$$

$$\text{Incremento en longitud (cm)} = \text{longitud}_{\text{final}} - \text{longitud}_{\text{inicial}} \quad (2)$$

$$\text{Tasa de crecimiento en peso (g pez}^{-1} \text{ día}^{-1}) = [(\text{peso}_{\text{final}} - \text{peso}_{\text{inicial}}) / \text{número de peces}] / T \quad (3)$$

$$\text{Tasa de crecimiento en longitud (cm pez}^{-1} \text{ día}^{-1}) = [(\text{longitud}_{\text{final}} - \text{longitud}_{\text{inicial}}) / \text{número de peces}] / T \quad (4)$$

T: Número de días de bioensayo

2.9 Supervivencia

$$\text{Porcentaje (\%)} \text{ de supervivencia} = (\text{peces vivos al final del experimento} / \text{cantidad de peces al inicio del experimento} * 100) \quad (5)$$

2.10 Ingestión diaria de alimento y conversión alimenticia.

$$\text{Ingestión diaria promedio (g pez}^{-1} \text{ día}^{-1}) \text{ ID} = (\text{promedio de alimento diario seco suministrado (g)} / \text{número de peces del estanque}) / \text{días del bioensayo} \quad (6)$$

$$\text{Tasa de conversión alimenticia (TCA)} = (\text{alimento consumido en base seca} / \text{peso húmedo ganado por pez}) \quad (7)$$

2.11 Análisis químico proximal.

Al inicio del bioensayo de alimentación se tomó una muestra total de 10 peces, al término del ensayo se tomaron 6 peces por unidad experimental para determinar la composición química. Los peces muestreados se colocaron en bolsas con cierre hermético e inmediatamente se almacenaron a -20°C hasta su análisis. Se tomaron muestras de cada dieta; se obtuvieron muestras de organismo entero, porción muscular e hígado las cuales se homogeneizaron y liofilizaron para su ulterior análisis. Muestras por triplicado se analizaron para determinar el contenido de cenizas, proteína cruda y lípidos totales. La determinación de cenizas se realizó calcinando las muestras a 525°C por 6 horas. La proteína cruda se evaluó por el método microkjeldhal (AOAC, 1995), mediante la determinación del contenido de nitrógeno total y multiplicado por el factor de 6.25. Los lípidos totales se determinaron por extracción con cloroformo-metanol (2:1 v/v) según el método de Folch *et al* (1957). El extracto libre de nitrógeno (ELN) se obtuvo por diferencia del 100% el cual incluye la fibra cruda que no fue analizada. En heces sólo se analizó el contenido de proteína cruda.

2.12 Energía bruta

La energía bruta en muestras de alimento, músculo y pez completo por tratamiento se calculó teóricamente a partir de su composición proximal con base en valores de referencia para proteínas (5.64 kcal g⁻¹), lípidos (9.44 kcal g⁻¹) y carbohidratos (4.11 kcal g⁻¹) (Bureau *et al.*, 2002).

2.13 Índice hepatosomático

El índice hepatosomático, peso del hígado con respecto al peso del organismo, se determinó a partir de los hígados de los peces muestreados al inicio y término del bioensayo de alimentación

$$\text{IHS} = (\text{peso hígado} / \text{peso del pez}) \quad (8)$$

2.14 Digestibilidad aparente

Para determinar la digestibilidad aparente del alimento se usaron las heces colectadas en los dos tiempos referidos anteriormente de cuatro días cada uno. La determinación de cenizas insolubles en ácido en alimentos y heces se efectuó de acuerdo a la técnica descrita por Tejada (1992) y modificada por Montaña-Vargas *et al.* (2002). La cual comprende el calcinar las muestras a 450°C durante 12 hrs., acidificarlas con HCl 2N en ebullición, filtrar la solución resultante en filtro de fibra de vidrio GF/F previamente lavado, calcinado y pesado; enjuague final con agua caliente destilada. Los filtros con las muestras se calcinan nuevamente, para determinar el contenido de cenizas insolubles mediante diferencia de peso del total de las cenizas. El coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) se calculó de acuerdo a lo reportado por Caballero *et al.* (2002) y Satpathy *et al.* (2003), mediante el uso de la siguiente ecuación:

$$\text{CDA} = 100 - (\text{I alimento} / \text{I heces}) * 100 \quad (9)$$

Donde I es el indicador (cenizas insolubles) en cantidad (g)

La digestibilidad proteica aparente (DPA) se determinó de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{DPA} = 100 - \{(P \text{ Heces} / P \text{ total alimento}) * (I \text{ alimento} / I \text{ heces})\} * 100 \quad (10)$$

Donde **P** es la cantidad de proteína total (g). La proteína total en el alimento comprende la proteína tratada y no tratada; **I** es el indicador utilizado (cenizas insolubles en ácido) dado en gramos, en heces y alimento.

La cantidad de proteína digestible (PD) de las dietas ($\text{g}100 \text{ g}^{-1}$), (Chong y Alí, 2002), se calculó con base en el promedio de la digestibilidad proteica aparente (DPA), obtenida en cada uno de los tratamientos.

2.15 Análisis estadístico

El diseño experimental del presente trabajo fue aleatorio simple. La normalidad de los datos se analizó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas se determinó a través de la prueba de Bartlett. Los efectos significativos de las cantidades de proteína digestible consumida sobre las variables bioquímicas o biológicas de los organismos se determinaron mediante análisis de varianza de una vía con el programa SigmaStat versión 2.0 y Sigma Plot 2000 para Windows versión 6.0. Las diferencias entre medias por tratamiento se determinaron mediante pruebas de comparaciones múltiples. Las diferencias significativas se establecieron con un valor de $P \leq 0.05$. Para determinar los requerimientos de proteína digestible para máximo crecimiento

se empleó el método de regresión no lineal de 2º grado, mediante el uso del programa MATLAB versión 7.0

3. RESULTADOS

3.1 Dietas experimentales

El análisis de las dietas empleadas en el bioensayo mostró un contenido de proteína cruda que varió de 58.4g 100g⁻¹ a 64.1g 100g⁻¹, con una relación proteína/energía de 11.6 a 12.2 (Tabla III).

Tabla III. Composición proximal (en peso seco) y razón proteína/energía de las dietas experimentales (g 100g⁻¹).

Tratamiento	Proteína cruda	Lípidos totales	Cenizas	ELN+fibra	Energía bruta (kcal g ⁻¹)	Relación P/E (g/100 g ⁻¹ /kcal g ⁻¹)
D60	60.0±0.24	14.7±0.92	7.8±0.03	17.3±1.08	5.1±0.09	11.8±0.16
D52	59.8±1.25	13.8±0.43	6.4±0.04	19.9±1.33	4.94±0.08	12.1±0.06
D42	58.4±0.36	15.3±0.07	7.4±0.01	18.9±0.43	5.04±0.03	11.6±0.01
D39	64.1±0.13	14.5±0.37	6.6±0.03	14.9±0.14	5.3±0.01	12.2±0.01
D27	59.7±0.37	14.4±0.34	6.9±0.05	18.9±0.45	5.01±0.03	11.9±0.01

3.1 Crecimiento

El crecimiento en peso (Figura 1) observado en los tratamientos D60 y D52 fue similar al final del bioensayo, dando lugar a un peso final de 32.59 ±2.26 y 32.31 ±1.27 g respectivamente. A medida que en la dieta disminuyó la cantidad de proteína cruda no tratada el crecimiento fue menor. En los tratamientos D42, D39 y D27 se registró un peso final de 27.30 ± 0.77;

24.67 $\pm$ 0.57 y 21.49 $\pm$ 1.07 g respectivamente. El análisis estadístico indicó tres grupos, en los cuales D60 y D52 no presentaron diferencias significativas, por otra parte D42 y D39 fueron similares y diferentes al primer grupo, y finalmente el tratamiento D27 fue significativamente menor al resto de los tratamientos ($P<0.05$).

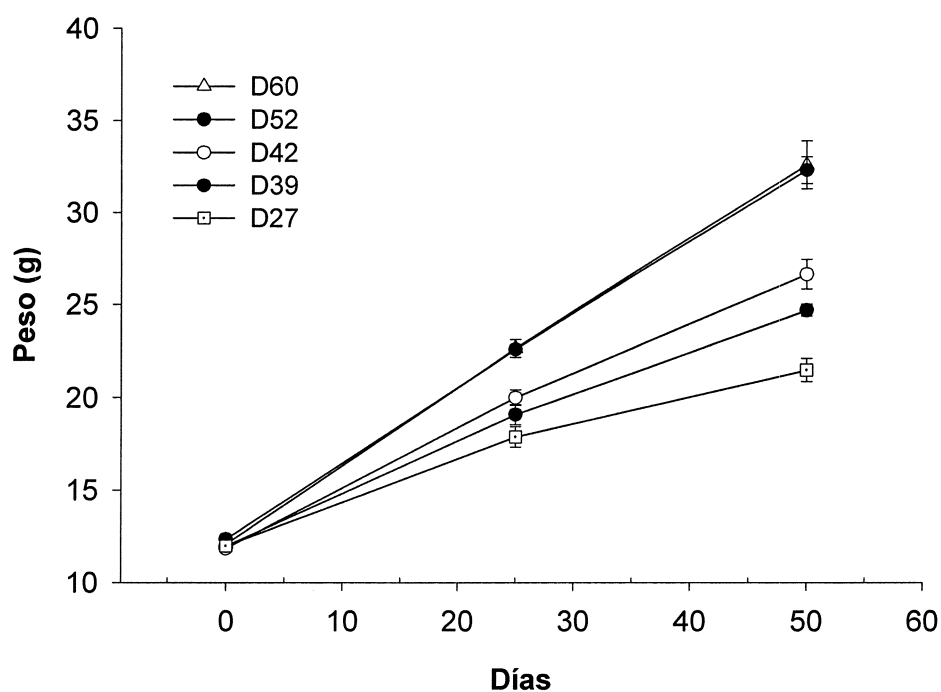


Figura 1.- Crecimiento en peso (g) de juveniles de corvina blanca alimentados durante 50 días con diferentes niveles de proteína digestible.

En el crecimiento relacionado a la talla (longitud) (Figura 2) de los tratamientos D60 y D52 no se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$); sin embargo fueron diferentes del resto.

El crecimiento en corvina blanca fue más notorio en peso que en longitud (Tabla IV). En el tratamiento D60 se registró una tasa de crecimiento en peso

de de 0.41 ± 0.04 g pez⁻¹ día⁻¹, y crecimiento en longitud de 0.08 ± 0.002 cm pez⁻¹ día⁻¹; mientras que en el tratamiento D27 crecieron 0.19 ± 0.03 g pez⁻¹ día⁻¹ y 0.05 ± 0.004 cm pez⁻¹ día⁻¹.

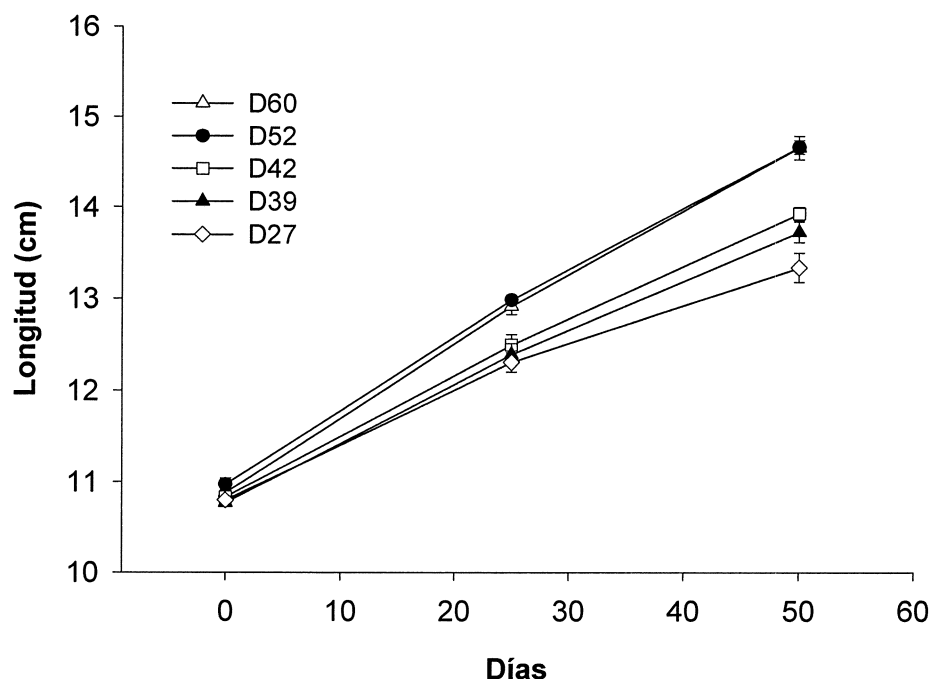


Figura 2.- Crecimiento en longitud (cm) de juveniles de *A. nobilis* sometidos a bioensayo de alimentación con 5 niveles de proteína digestible.

Los peces que fueron alimentados con las dietas D60 y D52 registraron tasas de crecimiento significativamente mayores que los de los tratamientos D42, D39 y D27. Asimismo la tasa de crecimiento en peso del grupo D27 fue significativamente menor ($P < 0.05$) a todos los otros tratamientos. La sobrevivencia de los peces durante el bioensayo no mostró diferencias significativas entre los tratamientos de alimentación, el valor promedio fue de

93.9%. En el tratamiento D39 se obtuvo un valor de 86.7 ± 16.2 en tanto que en D 60 se presentó de 100% (Tabla IV).

Tabla IV- Tasa de crecimiento en peso, en longitud y sobrevivencia de juveniles de corvina blanca durante el bioensayo de alimentación.

Tratamiento	Tasa de crecimiento (g pez ⁻¹ día ⁻¹)	Tasa de crecimiento (cm pez ⁻¹ día ⁻¹)	Sobrevivencia
D60	0.41 ± 0.04^a	0.08 ± 0.002^a	100 ± 0.0
D52	0.40 ± 0.02^a	0.07 ± 0.001^a	94.7 ± 2.3
D42	0.31 ± 0.02^b	0.06 ± 0.001^b	94.7 ± 2.3
D39	0.25 ± 0.02^b	0.06 ± 0.003^b	86.7 ± 16.2
D27	0.19 ± 0.03^c	0.05 ± 0.004^b	93.3 ± 8.3

3.3 Ingestión diaria de alimento y conversión alimenticia.

La mayor cantidad de alimento ingerido por día se presentó en el tratamiento D42 (0.49 ± 0.01 g día⁻¹ pez⁻¹) en tanto que el D27 presentó el menor valor (0.45 ± 0.01 g día⁻¹ pez⁻¹). Los consumos de D60, D52, D42 y D39 no mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

La tasa de conversión alimenticia más baja (TCA) se registró en el tratamiento D60 (1.14 ± 0.09), seguido de D52 (1.21 ± 0.10); en contraste, la TCA más alta se presentó para la dieta D27 (2.37 ± 0.23). El análisis estadístico

indicó que los tratamientos se dividieron en tres grupos significativamente diferentes: D60 y D52, D42 y D39 y por separado D27 (TablaV).

3.4 Índice hepatosomático.

Los valores del índice hepatosomático no mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos de alimentación (Tabla V). Sin embargo el tratamiento D60 presentó un valor promedio de 1.96, en tanto que los tratamientos restantes mostraron valores de 2.31 a 2.78.

Tabla V.- Ingestión diaria de alimento, tasa de conversión alimenticia e índice hepatosomático obtenidos en juveniles de corvina blanca alimentados durante 50 días con diferentes niveles de proteína digestible.

Tratamiento	Tasa de Ingestión (g pez ⁻¹ día ⁻¹)	TCA	IHS
D60	0.47 ± 0.02 ^{ab}	1.14 ± 0.09 ^a	1.96±0.26
D52	0.48 ± 0.02 ^{ab}	1.21 ± 0.10 ^a	2.78±0.28
D42	0.49 ± 0.01 ^a	1.61 ± 0.06 ^b	2.47±0.23
D39	0.46 ± 0.02 ^{ab}	1.81 ± 0.17 ^b	2.58±0.16
D27	0.45 ± 0.01 ^b	2.37 ± 0.23 ^c	2.31±0.73

3.5 Análisis químico proximal de tejidos.

3.5.1 Músculo

El contenido de proteína cruda del músculo de juveniles de corvina blanca (85.5% a 86.6%, Tabla VI) no mostró diferencias significativas entre

tratamientos ($P < 0.05$). La concentración de lípidos totales fue mayor en el tratamiento D60 ($4.27 \pm 0.08\%$), a medida que aumentó la inclusión de harina de pescado tratada con formaldehído el contenido disminuyó hasta $2.54 \pm 0.27\%$ en el tratamiento D27. La concentración de lípidos totales del tratamiento D27 fue significativamente menor que la de los tratamientos D60 y D52 ($P > 0.05$)

Tabla VI.- Composición proximal de músculo (en peso seco) de juveniles de *Atractoscion nobilis* después de 50 días de alimentación.

Tratamiento	Cenizas totales (%)	Proteína cruda (%)	Lípidos totales (%)	ELN (%)
D60	6.94 ± 0.21	86.62 ± 0.31	4.27 ± 0.08^a	2.17 ± 0.18
D52	6.74 ± 0.08	86.02 ± 0.24	3.86 ± 0.47^{ab}	3.38 ± 0.38
D42	6.96 ± 0.12	85.51 ± 1.20	3.53 ± 0.49^{ab}	4.00 ± 0.84
D39	7.42 ± 0.32	85.80 ± 0.88	3.14 ± 0.31^{bc}	2.60 ± 0.89
D27	7.82 ± 0.14	85.70 ± 1.42	2.54 ± 0.27^c	2.44 ± 1.68

3.5.2 Hígado

El contenido de proteína cruda en hígado no mostró diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo se observó un valor de

26.27 $\pm$ 1.70% de proteína en peces alimentados con el tratamiento D27 y de 19.19 $\pm$ 1.60% con la dieta D52 (Tabla VII).

Asimismo en la concentración de lípidos totales en el hígado no se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los tratamientos. El mayor contenido de lípidos se presentó en el tratamiento D60 (49.7 $\pm$ 4.0%) y el menor en el tratamiento D27 (34.84 $\pm$ 3.17%).

Tabla VII.- Concentración de proteína cruda y lípidos totales en hígado (en peso seco) de juveniles de corvina blanca, sometidos a alimentación con niveles de proteína digestible.

Tratamiento	Proteína cruda (%)	Lípidos totales (%)
D60	22.72 $\pm$ 3.75	49.70 $\pm$ 4.0
D52	19.19 $\pm$ 1.60	48.25 $\pm$ 9.03
D42	21.21 $\pm$ 2.37	43.50 $\pm$ 5.73
D39	20.82 $\pm$ 2.43	44.07 $\pm$ 7.24
D27	26.27 $\pm$ 1.70	34.84 $\pm$ 3.17

La proteína cruda y los lípidos totales en el hígado presentaron en el tratamiento D27 una baja concentración de lípidos y alta de proteína (34.84% y 26.27% respectivamente); en tanto que en el tratamiento D60 se observó un contenido alto de lípidos y bajo en proteínas (49.7% y 22.72% respectivamente).

3.5.3 Pez completo

La concentración de proteína cruda en el pez completo mostró una tendencia hacia un contenido mayor en los organismos alimentados con el tratamiento D60 con una disminución a medida que en la dieta se incrementó la harina de pescado tratada (Tabla VIII). La concentración de lípidos totales no mostró ningún patrón específico.

Tabla VIII.- Composición proximal del pez completo (en peso seco) en juveniles de corvina blanca sometidos a un bioensayo de alimentación con diferentes niveles de proteína digestible.

Tratamiento	Cenizas totales (%)	Proteína cruda (%)	Lípidos totales (%)	ELN (%)
D60	12.59	72.24	9.54	5.63
D52	13.47	70.07	11.83	4.63
D42	15.66	69.88	9.87	4.60
D39	15.92	65.05	12.46	6.56
D27	18.91	66.82	9.88	4.38

3.5.4 Energía en músculo y pez completo

La energía bruta presente en el músculo de juveniles de corvina blanca fue aparentemente mayor en el tratamiento D60 la cual disminuyó conforme se incrementó la harina de pescado tratada.

La mayor cantidad de energía se determinó en el tratamiento D52 (5.25 kcal g⁻¹); en el músculo y pez completo, la menor cantidad de energía se evaluó en el tratamiento D27 (4.88 kcal g⁻¹) (Tabla IX).

Tabla IX.- Contenido de energía bruta en el músculo y el pez completo, basado en el cálculo teórico* a partir de la composición proximal de juveniles de corvina blanca después de 50 días de alimentación.

Tratamiento	Energía en músculo (kcal g ⁻¹)	Energía en pez completo (kcal g ⁻¹)
D60	5.37	5.20
D52	5.35	5.25
D42	5.32	5.06
D39	5.24	5.11
D27	5.17	4.88

*Proteínas=5.64Kcal g⁻¹; lípidos=9.44Kcal g⁻¹; EL de N= Proteínas-lípidos-cenizas (Bureau *et al.*, 2002)

3.6 Digestibilidad aparente

El coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) mostró una tendencia inversa con la concentración de proteínas en las heces. El tratamiento D60 presentó el mayor CDA (79.37%) y la menor concentración de proteínas en heces (28.74%), en contraste, en el tratamiento D27 se determinó el menor CDA (45.52%) y el mayor contenido de proteínas en heces (71.3%) (Tabla X)

Tabla X.- Valores promedio del coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) y concentración de proteína cruda en heces, obtenidos en juveniles de *A. nobilis*, durante el bioensayo de alimentación.

Tratamiento	CDA (%)	Proteína cruda en heces (%)
D60	79.37	28.7
D52	74.66	51.1
D42	57.73	57.7
D39	49.29	64.5
D27	45.52	71.3

El CDA mostró que los tratamientos con mayor proteína cruda no tratada (PCNT) obtuvieron un mayor CDA, en tanto que los de menor PCNT en la dieta presentaron un menor CDA (Figura 3).

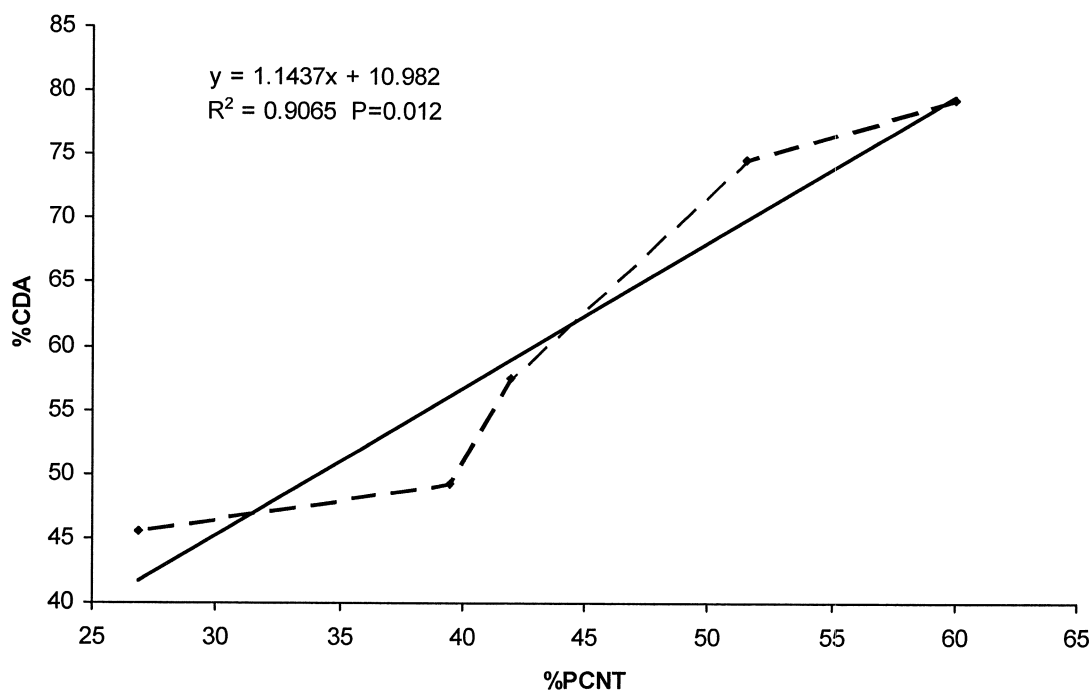


Figura 3.- Coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) en juveniles de corvina blanca alimentados con diferentes niveles de proteína cruda no tratada

El CDA presentó una regresión de segundo orden significativa ($P < 0.05$) con la tasa de crecimiento en peso. El mayor crecimiento se observó en los tratamientos D60 y D52 con los mayores valores de CDA (79.35 y 74.66% respectivamente), mientras que a menor CDA la tasa de crecimiento disminuyó significativamente (Figura 4)

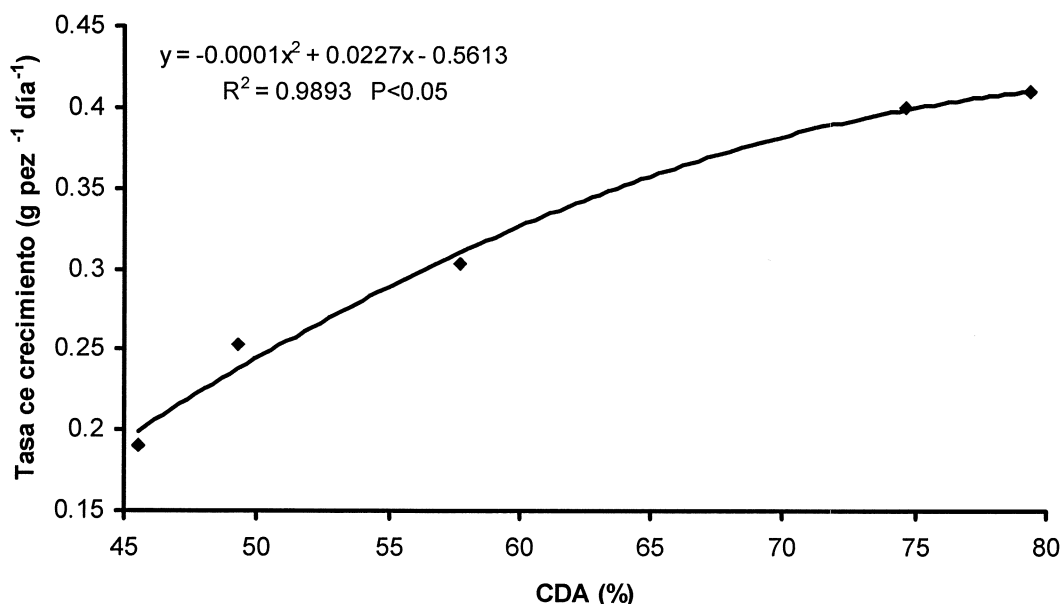


Figura 4.- Tasa de crecimiento con relación al coeficiente de digestibilidad del alimento (CDA) en juveniles de *A. nobilis* alimentados con 5 niveles de proteína cruda tratada.

3.7 Requerimiento proteico

El requerimiento proteico de juveniles de *A. nobilis* se determinó con base en el crecimiento en peso y el coeficiente de digestibilidad del alimento (Figura 4). Ya que las dietas experimentales tuvieron la misma formulación y la única diferencia en ellas fue la proporción de la harina de pescado tratada y no tratada se encontró que la dieta D52, correspondiente a 52% de PCNT mostró un crecimiento en peso equiparable al máximo encontrado con la dieta D60 equivalente a 60% de PCNT

Se estimó la proporción de proteína digestible en cada una de las dietas con base en la DPA obtenida en cada uno de los tratamientos, la cual fue

calculada mediante la fórmula 10 que sólo considera en la expresión el contenido de proteína cruda total. El análisis de regresión de los valores de las tasas de crecimiento en peso y los contenidos estimados de proteína digestible en las dietas mostró un regresión de 2º grado significativa ($y = -9.43e^{-05}x^2 + 0.01x + 0.147$, $R^2 = 0.946$, $P < 0.05$) con un contenido de 41.2% de proteína digestible asociado a la tasa de máximo crecimiento ($0.40 \text{ g pez}^{-1}\text{día}^{-1}$)

4. DISCUSION

4.1 Tratamiento de la harina de pescado con formaldehído

El formaldehído actúa en las proteínas modificando su estructura, de tal manera que se reduce su digestibilidad (Subuh *et al.*, 1996; Metz *et al.*, 2004). La ventaja de emplear esta técnica radica en la formulación de una dieta con los 5 niveles de inclusión de harina tratada y no tratada, con niveles de los ingredientes restantes en una proporción similar. Se tiene conocimiento que la proteína tratada con formaldehído es un método favorable para incrementar y estudiar la proteína de paso en rumiantes, de tal manera que ésta viaja a través del rumen sin ser digerida y aprovechada por las bacterias. En el presente estudio se ha corroborado que la técnica de tratamiento químico aplicada a la harina de pescado tuvo efecto en la digestibilidad de la misma, puesto que el crecimiento de los peces se vio afectado significativamente. También existe evidencia de que esta proteína tratada pueda ser de nuevo digerida al estar en un ambiente ácido como el del estómago. Sin embargo se requerirá de un estudio caracterizando la acidez del estómago de los peces y el posible efecto en la degradación de proteínas tratadas con formaldehído, para poder determinar si los peces son capaces de degradarlas.

El uso de una harina de pescado tratada con formaldehído es una manera de poder balancear las raciones sin tener que incrementar carbohidratos cuando se trata de organismos carnívoros, ya que la harina de pescado, tiene como ingrediente principal a la proteína.

4.2 Crecimiento, ingestión de alimento y tasa de conversión alimenticia.

En los peces alimentados con los tratamientos D60 y D52 no se encontraron diferencias significativas en su crecimiento, esto sugiere que a pesar de que una de las dietas incluía 8% de harina de pescado tratada, los organismos tuvieron la capacidad de crecer igual que el tratamiento sin harina tratada (Tabla V). En los tratamientos D42, D39 y D27; se registró un menor crecimiento a medida que la inclusión de harina de pescado tratada fue mayor; si se comparan los resultados de crecimiento en todos los tratamientos, se podría considerar que a partir del tratamiento D42 las dietas no cubrieron los requerimientos mínimos de los peces. Se presume que la disponibilidad de las proteínas fue el factor que determinó dicha tendencia (Jobling, 1994); ya que en la presente investigación se trabajó con una sola dieta para corvina blanca ya evaluada, (Torres, 2005; Briggs, 2006; Agúndez, 2007) con la cual se formularon cinco niveles de proteína no tratada, pero los demás componentes mantuvieron una misma proporción en todos los tratamientos

La ingestión diaria de alimento no mostró una tendencia específica, los tratamientos D42 y D27 fueron estadísticamente diferentes entre ellos (Tabla V), sin embargo, no presentaron diferencias significativas con los demás tratamientos ($p \leq 0.05$). En nutrición de peces se reporta que la ingestión de alimento está determinado por el contenido de proteína y/o energía del alimento de tal forma que se cubran estos requerimientos nutricionales

(Bureau *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2006); las dietas elaboradas fueron isocalóricas en términos de energía bruta; sin embargo la energía digestible fue diferente en cada una, por lo tanto se podría atribuir la ingestión obtenida a la variación de la energía digestible en cada uno de los tratamientos.

El valor de la TCA aumentó a mayor inclusión de harina de pescado tratada. En peces generalmente la TCA se ubica en un intervalo de 1.2 y 1.5 para animales que se han alimentado con dietas con un adecuado balance nutricional (De Silva y Anderson, 1995), por lo tanto se estima que los tratamientos D60 y D52 cumplieron con dicho balance. En juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con 15.5% de lípidos totales y 61.5 % de proteína cruda se reporta un valor de 1.0 para la TCA (Torres, 2005); 1.17 para juveniles de anguila americana alimentados con una dieta con 47% de proteína (Tibbetts *et al.*, 2000); en juveniles de *Paralabrax maculatofasciatus* alimentados con dietas conteniendo 40, 45 y 50 % de proteína, se reportan valores de TCA de 1.60, 1.53 y 1.43 respectivamente (Alvarez-González *et al.*, 2001). Estos valores son similares a los observados en el presente trabajo así como la tendencia en relación al contenido de proteína en las dietas.

4.3 Sobrevivencia

Ya que los juveniles de corvina blanca se estresan con facilidad; el área de cultivo fue aislada y se les mantuvo con la mínima interacción posible con el entorno. Después de las biometrías, los peces se sometieron a un tratamiento de peróxido de hidrógeno para prevenir problemas asociados al

manejo. A pesar de los cuidados se presentaron organismos con lesiones en la piel y aletas; así como disminución de su actividad natatoria. En una réplica del tratamiento D39 se encontró una sobrevivencia del 68% y se detectó una alta proporción de organismos enfermos, en contraste, en las otras dos unidades del mismo tratamiento los valores de sobrevivencia fueron significativamente mayores. Esto denota que la dieta suministrada no fue un factor preponderante que determinó la sobrevivencia.

Se estima que la mortalidad pudo estar relacionada con el efecto del estrés en los organismos y su influencia en la susceptibilidad a enfermedades (Flores-Quintana, 2002), sin embargo, dicho efecto no fue determinado.

Lee *et al.*, (2003) reportan en su estudio para determinar el requerimiento proteico en juveniles de *Scophthalmus maximus* que el nivel de proteína suministrado en dietas formuladas balanceadas no mostró un efecto significativo en la sobrevivencia de los peces, obteniendo 96.5 ± 0 con el menor contenido de proteína ensayado (29% de proteína cruda). En el presente estudio el tratamiento de mayor inclusión de harina de pescado tratada mostró la mayor sobrevivencia (93.3 ± 8.3).

4.4 Índice hepatosomático (IHS)

En el presente trabajo se obtuvieron valores de IHS de 1.96 a 2.78 en los tratamientos de D60 y D52 respectivamente (Tabla V). En corvina blanca, se

considera que valores de IHS entre 1.8 y 2.8 se asocian con hígados sanos (Torres, 2005). Dentro de los factores que influyen en el IHS en peces están la alta concentración de lípidos y de carbohidratos en la dieta, los cuales pueden provocar un aumento en dicho parámetro y afectar la función del hígado (Lee *et al*, 2002; Lee *et al*, 2003, Hemre *et al*, 2002), En tambor rojo (*S. ocellatus*) se reporta que el IHS es impactado significativamente por el nivel de proteína y lípidos en la dieta, a mayor nivel de proteína generalmente se reduce el IHS (McGoogan y Gatlin, 1999). En juveniles de “haddock” (*M. aeglefinus*), con dietas isoenergéticas, se reporta que el índice hepatosomático disminuye al aumentar el contenido de proteína (Kim y Lall 2001) en juveniles de perca plateada (*Bidyanus bidyanus*) se cita que el IHS está inversamente relacionado con los niveles de proteína en la dieta, con valores de 2.79 y 1.33 con 13% y 55% de proteína cruda respectivamente (Yang *et al.*, 2002).). Esto concuerda con los resultados del presente estudio, ya que el menor índice hepatosomático lo presentaron los juveniles del tratamiento D60, que corresponde a la dieta con mayor fuente proteica susceptible a ser digerida.

4.5 Análisis químico proximal

4.5.1 Músculo

El contenido de proteína cruda en el músculo de los juveniles de corvina blanca fue similar en todos los tratamientos (Tabla VI). En peces se ha determinado que la dieta no tiene un efecto significativo en el nivel de proteína

del músculo, ya que está determinado por la expresión genética de la especie (Wilson, 2002). La depositación de proteínas tiene preferencia sobre la depositación de lípidos (Bureau *et al.*, 2002). La concentración de proteínas obtenida fue similar a los valores reportados por Torres (2005).

La concentración de lípidos totales en el músculo fue estadísticamente diferente entre los tratamientos D60 y D27; disminuyendo a mayor inclusión de harina de pescado tratada en la dieta. La mayor concentración de lípidos asociada con el tratamiento de D60 podría estar relacionada con una mayor disponibilidad energética debido a un mayor contenido de proteína digestible, en contraste, en el tratamiento D27, se estima que debido a su alimentación con una dieta baja en proteínas digestibles, se produjo una baja acumulación de lípidos (Ai Q. *et al.*, 2004). Cuando se alimenta a peces con dietas que no cubren sus requerimientos de proteína y/o energía tienden a optimizar los nutrientes de la dieta y a movilizar los lípidos del animal para mantener la depositación de proteínas y favorecer su crecimiento (Bureau *et al.*, 2000).

4.5.2 Hígado

El contenido de proteína cruda determinada en el hígado presentó variación con referencia a los tratamientos experimentados. Los organismos del tratamiento D52 mostraron el menor contenido de proteína cruda, mientras que los de mayor concentración fueron los del tratamiento D27 (Tabla VII), sin

embargo no se determinaron diferencias significativas entre tratamientos; lo cual podría atribuirse a la variabilidad entre los datos

Los organismos alimentados con la dieta D60, aparentemente presentaron la mayor concentración de lípidos totales; de igual manera que en el músculo, la concentración disminuyó a medida que la dieta tuvo mayor inclusión de harina de pescado tratada. En peces magros como la corvina blanca se conoce que el hígado es un órgano donde se depositan lípidos para el almacenamiento de energía; en peces cultivados el depósito puede ser de 15-20% del peso corporal. (Jobling, 2001). Estadísticamente los tratamientos no presentaron diferencias; debido posiblemente a la dispersión asociada a los datos. Presumiblemente el contenido de lípidos totales en el hígado de los peces alimentados mostró una tendencia con la inclusión de harina tratada, esto podría atribuirse a que los organismos tenían una mayor disponibilidad energética para depositación.

4.5.3 Pez completo

La importancia relativa de la depositación de proteínas y lípidos depende de factores como el nivel de digestibilidad y calidad de la proteína de la dieta. Bureau *et al*, (2000) citan que las proteínas de alto valor biológico promueven mayor depositación proteica que las proteínas de menor valor biológico. El contenido de proteína cruda en muestras de pez completo de los tratamientos D60 y D52 (72.24 y 70.07%) presumiblemente fue mayor que el encontrado en D27 (66.82%). Se estima que los peces alimentados con las dietas con menor

contenido de harina de pescado tratada fueron capaces de almacenar mayor contenido de proteínas, lo cual se reflejó en una mayor ganancia en peso de los organismos. El crecimiento involucra la depositación de componentes corporales o de nutrientes (Bureau *et al.*, 2000). Si se considera el crecimiento como un incremento en peso (masa), se puede observar que las dietas de D60 y D52 fueron adecuadas para promover la acreción de proteínas y otros nutrientes.

Los lípidos totales obtenidos en pez completo no presentaron un patrón específico, lo cual se observó en la variación de los datos obtenidos; esto se podría atribuir a la variación de la proporciones de los tejidos muscular, visceral y esquelético en los organismos por tratamiento, ya que dichos tejidos contienen diferentes proporciones de lípidos (Jobling, 2001) o que la variación entre réplicas no permite evaluar este aspecto. (Tabla VIII).

4.6 Digestibilidad aparente.

El valor nutricional de un alimento está basado no solamente en su composición química, sino también en la cantidad de nutrientes o energía disponibles para la absorción y uso por parte del pez. La biodisponibilidad de nutrientes o energía en los alimentos para peces puede definirse principalmente en términos de digestibilidad (NRC, 1993).

En el presente trabajo, el coeficiente de digestibilidad del alimento de los tratamientos con menor inclusión de HPT tuvieron los valores más altos de CDA

(Figura 3). Usualmente los coeficientes de digestibilidad para alimentos ricos en proteína se encuentran con frecuencia en un intervalo de 75 a 95% (NRC, 1993; Guillaume, 2001).

El cálculo de la digestibilidad proteica aparente se realizó con una fórmula que incluye en la expresión el contenido de la proteína cruda total, pero no diferencia la inclusión de la proteína no tratada y la proteína tratada con formaldehído. Sería recomendable que en investigaciones futuras se cuente con una expresión que incorpore los contenidos de proteína tratada y no tratada por separado con el propósito de que el cálculo de la digestibilidad proteica aparente se realice en una forma más exacta en concordancia al diseño experimental utilizado

Tomando en cuenta los valores estimados de DPA en las dietas D60 y D52 (90.12% y 79.69% respectivamente) del presente trabajo fueron similares a los reportados en especies comerciales bajo condiciones de cultivo. La digestibilidad proteica aparente (DPA) reportada en especies de peces presenta valores de 89 a 97% en juveniles de *D. labrax* (Gomes da Silva y Oliva-Teles, 1998); 93% en juveniles de *Epinephelus coioides* alimentados con dieta de 48.5 g100g⁻¹ de proteína cruda y 9.28 g100g⁻¹ de lípidos totales (Eusebio *et al.*, 2004); 92.2% en dorada (*Sparus aurata*) alimentada con una dieta de 44.9 g100g⁻¹ de proteína cruda y 10.9 g100g⁻¹ de lípidos totales, para la DPA (Fountoulaki *et al.*, 2005). Una DPA de 87.02% en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada con dietas isoenergéticas, de 41.91% de proteína cruda y 10.85% de lípidos totales (Morales *et al.*, 1999); una DPA de

90.9% en la misma especie con una dieta de 43.3% de proteína cruda y 13.4% de lípidos totales, (Vandenberg y de La Noüe, 2001). En juveniles de *Pagellus bogaraveo* se reporta una DPA de 91.5% a partir de una dieta de 60% de proteína cruda y 11.6 de lípidos totales (Silva *et al.*, 2006).

En la elaboración de las dietas se utilizó harina de filete de pescado blanco de buena calidad que fue secada a baja temperatura, por lo que se puede asegurar su calidad y relacionar esta característica con su digestibilidad. Se ha observado en carpa común y en “sea bass” (*D. labrax*) un aumento en la actividad proteolítica intestinal cuando se incrementa el contenido de proteína en la dieta, sugiriendo que la actividad enzimática está relacionada con la cantidad de proteína en el intestino (Eusebio *et al.*, 2004). La digestibilidad aparente de los alimentos puede variar con los contenidos de fibra cruda y carbohidratos en la dieta (Eusebio *et al.*, 2004), limitando la digestibilidad de la proteína. Los peces carnívoros presentan una baja digestibilidad de carbohidratos por lo cual se sugiere no incluir más de 25% de almidón en la dieta (Guillaume, 2001). Los juveniles de *A. nobilis* fueron alimentados con un nivel de almidón de 15.89 g por 100g de alimento; que se encuentra dentro del intervalo sugerido para peces carnívoros (Webster y Lim, 2002; Hemre *et al.*, 2002). Los tratamientos D39 (40:60) y D27 (20:80) corresponden a los de mayor nivel de inclusión de HPT. Estudios en ganado bovino muestran que la presencia de formaldehído en el alimento disminuye la digestibilidad de la proteína cruda. La magnitud del efecto depende del ingrediente y el contenido

de formaldehído, de modo que altas concentraciones de formaldehído producen una máxima inhibición de proteólisis en el rumen y los organismos presentan una digestibilidad intestinal reducida (Antoniewicz *et al*, 1992). Por lo tanto, en nuestro estudio se asume que en los tratamientos D39 y D27 la proteína biodisponible fue muy escasa y de igual manera la digestibilidad del alimento.

La cantidad de proteínas en las heces debe mantener una relación inversa con la proporción de proteína digestible en la dieta, ya que la digestibilidad está asociada a la fracción del nutriente o energía en el alimento ingerido que no es excretado en las heces. (NRC, 1993; De Silva y Anderson, 1995; Bureau *et al*, 2002). La concentración de proteínas en las heces fue menor en los organismos del tratamiento D60 (28.74%) y aumentó con el incremento de inclusión de harina de pescado tratada hasta 71.3% en el tratamiento D27 (Tabla XII), lo cual se reflejó también en los parámetros de crecimiento de dichos tratamientos, lo cual es el patrón esperado en este estudio

La digestibilidad del alimento mantuvo una relación directa con la tasa de crecimiento, ya que si los peces son alimentados con dietas que cubren sus requerimientos nutricionales, incluyendo la porción de proteínas digestibles, se espera que presenten un buen desarrollo y altas tasas de crecimiento. Los tratamientos D60 y D52, con los mayores valores de CDA presentaron las mayores tasas de crecimiento (0.41 ± 0.04 y 0.40 ± 0.02 g pez⁻¹ día⁻¹

respectivamente); mientras que la menor tasa de crecimiento ($0.19 \pm 0.03 \text{ g pez}^{-1} \text{ día}^{-1}$) se observó en el tratamiento D27 con el menor valor de CDA.

4.7 Requerimiento proteico óptimo

Las mayores tasas de crecimiento en peso se obtuvieron con los tratamientos D60 y D52, ya que éstas no presentaron diferencias significativas, se consideró que el tratamiento D52 puede generar un crecimiento óptimo; el valor de CDA de dicho tratamiento fue de 74.66%.

Con la reserva asociada al cálculo del valor de digestibilidad proteica aparente (79.69%) en la dieta D52 con 51.58% de PCNT, se estimó mediante análisis de regresión de 2º grado que 41.2% de proteína digestible en la dieta se asoció con una tasa óptima de crecimiento de $0.40 \text{ g pez}^{-1} \text{ día}^{-1}$. El desarrollo de una fórmula apropiada a dietas con proteína tratada químicamente permitirá en futuros trabajos el poder realizar cálculos más exactos para estimar el requerimiento proteico en peces mediante esta aproximación metodológica

Se ha encontrado que en juveniles de *Diplodus sargus* un nivel de 38 a 42% de proteína cruda en la dieta satisface su requerimiento de crecimiento (Sá *et al*, 2006). De manera similar en juveniles de *Pagellus bogaraveo* se estimó que 40% de proteína digestible en la dieta produjo el mejor crecimiento y tasa de conversión alimenticia (Silva *et al.*, 2006). En alevines del sciaénido *Nibea miichthioides* se estimó que 40% de proteína digestible promueven el mayor

crecimiento y tasa de conversión alimenticia (Wang *et al.*, 2006). Dicha información es muy aproximada a lo obtenido en el presente trabajo.

El incremento en el nivel de inclusión de harina de filete de pescado tratada con formaldehído en las dietas suministradas a juveniles de corvina blanca resultó en una disminución en la tasa de crecimiento, en peso y longitud; en la concentración de lípidos totales en músculo e hígado; así como en la proporción de proteína cruda en el pez completo y en el coeficiente de digestibilidad del alimento. No se determinó efecto sobre la sobrevivencia y la ingestión diaria de alimento. En contraste, se produjo un aumento en la tasa de conversión alimenticia; en el índice hepatosomático sin que los valores indiquen alteración del hígado; en la proporción de lípidos totales en el músculo; así como en las proteínas totales del hígado y de heces fecales. Se estableció que el coeficiente de digestibilidad del alimento y el proteico mantienen una relación inversa con la concentración de proteínas en las heces.

La tasa de crecimiento y de conversión alimenticia no mostraron diferencias significativas en los tratamientos D60 y D52. Con base en el CDA del alimento se determinó que 51.58% de proteína cruda no tratada corresponde al requerimiento proteico de juveniles de *A. nobiliis*.

5. CONCLUSIONES

Conclusiones de relevancia obtenidas a partir del trabajo desarrollado:

- La digestibilidad total del alimento y de la proteína mostraron el efecto de los niveles de inclusión de la harina de pescado tratada con formaldehído principalmente en la tasa de crecimiento y la digestibilidad aparente del alimento.
- En peces alimentados con los tratamientos D60 y D52 no se encontraron diferencias significativas en crecimiento y composición química.
- El método de reducción de la digestibilidad proteica, mediante tratamiento químico de la harina de pescado, permite estimar el nivel de proteína requerido para obtener un máximo crecimiento en la especie de *A. nobilis*

6. RECOMENDACIONES

Se sugiere continuar con la determinación de la digestibilidad *in vitro* para conocer la reducción de la digestibilidad de la proteína de la harina de filete de pescado blanco y de allí establecer una comparación con la información de digestibilidad *in vivo* que se obtuvo.

Realizar una investigación con el diseño experimental utilizado en el presente trabajo que determine, de manera detallada, los índices y el procedimiento apropiado para la evaluación de las dietas con HPNT y HPT.

7. LITERATURA CITADA

Agúndez, A.A. 2007. Efectos del nivel de proteína en la dieta en el crecimiento y composición corporal de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) bajo condiciones de cultivo. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C. 51 pp.

Ai, Q., K. Mai, H. Li, C. Zhang, L. Zhang, Q. Duan, B. Tan, W. Xu, H. Ma, W. Zhang, Z. Liu Fu. 2004. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 230, 507-516.

Alvarez-González, C. A., R. Civera-Cerecedo, J. L. Ortiz-Galindo, S. Dumas, M. Moreno-Legorreta, T. Grayeb-Del Alamo. 2001. Effect of dietary protein level on growth and body composition of juvenile spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, fed practical diets. Aquaculture 194, 151-159.

Antoniewicz A.M., A.M. Van Vuuren, C.J. van der Koelen, I.Kosmala. 1992. Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of formaldehyde-treated feedstuffs measured by mobile bag and in vitro technique. Animal Feed Science and Technology 39 111-124.

AOAC. 1995. Official methods of Analysis of AOAC. 16 th Edition. Vol 1 Arlington, VA.

Briggs F.D.I. 2006. Digestibilidad en corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) utilizando harina de soya como fuente parcial de proteína. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C., 30 pp.

Bureau, P.D., P.A. Azevedo, M.Tapia-Salazar, G.Cuzon. 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potencial implications and applications. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapi-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A., Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre 2000 Mérida, Yucatán, México.

Bureau, D. P., S.J. Kaushik, C. Y. Cho. 2002. Bioenergetics. In: Halver, J. E., R. W. Hardy (eds.). Fish Nutrition. Academic Press, London, UK. 2-54.

Caballero M.; A. Obach, G. Rosenlund, D. Montero, M. Gisvold, M.S. Izquierdo. 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 214:253-271.

California Fish and Game. 2002. Review of some California fisheries for 2001: Market squid, sea urchin, dungeness crab, lobster, prawn, abalone, groundfish, swordfish and shark, coastal pelagic finfish, ocean salmon, nearshore live-fish, Pacific herring, white seabass and kelp. CalCOFI Report 43 . 13-30

Castillo, A.R., E. Kebreab, D.E. Beever, J.H. Barbi, J.D. Sutton, H.C. Kirby, J. France. 2001. The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. J. Animal Science 79, 247-253.

Chong, A. S. C., R. Hashim, A. B. Ali. 2000. Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon* spp.). Short communication. Aquaculture Nutrition 6, 275-278.

Chong, A. S. C., R. Hashim, A. B. Ali. 2000. Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). Aquaculture Nutrition 8, 229-238.

De Silva S.S., T.A. Anderson (1995). Fish Nutrition in Aquaculture. 1st.Edition. Chapman & Hall, London. 319 pp.

Eusebio, P. S., R. M. Coloso, R. E. P. Mamauag. 2004. Apparent digestibility of selected ingredients in diets for juvenile grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton). Aquaculture Research 35, 1261-1269.

Flores-Quintana C. 2002. Respuestas neuroendocrinas al estrés en peces teleósteos. Revista Ictiología 10 (1/2), 57-78.

Folch, J., M. Lees, G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry 226, 497-509.

Fountoulaki, E., M. N. Alexis, I. Nengas, B. Venou. 2005. Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Research 1-9.

Godoy-de león, S. Chicco, C.F. 1992. Degradación ruminal y utilización de fuentes proteicas tratadas con formaldehído. Zootecnia Tropical, 10(2) 205-217.

Gomes Da Silva, J., A. Oliva-Teles. 1998. Apparent digestibility coefficients of feedstuffs in seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Note. Aquaculture Living Resource 11(3) 187-191.

Guillaume, J.S. Kaushik, P. Bergot, R. Métailler. 2001. Digestive physiology and nutrient digestibility in fishes, Nutritional energetics, Protein nutrition. In:

Guillaume, J., R. Métailler (eds.). Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans. Praxis Publishing. Chichester, UK; 350 pp.

Hebb, C. D., J. D. Castell, D. M. Anderson, J. Batt. 2003. Growth and feed conversion of juvenile winter flounder (*Pleuronectes americanus*) in relation to different protein-to-lipid levels in isocaloric diets. *Aquaculture* 221, 439-449.

Hemre, G-I. T. P. Mommsen, A. Krogdahl. 2002. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition* 8, 175-194.

Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics. 1st. Edition. Chapman & Hall. London. 309 pp.

Jobling, M. 1995. Environmental Biology of Fishes. 1st. Edition. Chapman & Hall, Great Britain. 455 pp.

Jobling, M. 2001. Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. In: Houlihan, D., T., Boujard y M. Jobling (eds.) Food Intake in Fish. Blackwell Science, UK. 354-375.

Kent, D. B., R. F. Ford, M. A. Drawbridge. 2001. Experimental culture and evaluation of enhancing marine fishes in Southern California. The California Department of Fish and Game and The ocean Resources Enhancement and Hatchery Program Advisory Panel. 66 pp.

Kim, J.-D., S. P. Lall. 2001. Effects of dietary protein level on growth and utilization of protein and energy by juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture* 195, 311-319.

Kowalczyk, J. 1982. The digestion in the small intestine of young bulls of the protein of rapeseed meal treated or untreated with formaldehyde. *Animal Feed and Technology*, 7 225-232.

Lazo, J.P., D.A. Davis. 2000. Feed and ingredient evaluation in R.R. Stickney (Ed). *The Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley and Sons. New York, pp 453-463.

Lee, S. M., I. G. Jeon, J.Y. Lee. 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Aquaculture* 211, 227-239.

Lee, J. K., S. H. Cho, S. U. Park, K. D. Kim, S. M. Lee. 2003. Dietary protein requirement for young turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Nutrition* 9, 283-286.

Lee, J.H., K-D, Kim. 2006. Optimum dietary protein for growth of juvenile Starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Communication. Journal of the World Aquaculture Society*. 37 (2) 200-203.

López, L. M., A. L. Torres, E. Durazo, M. Drawbridge, D. P. Bureau. 2006. Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture* 253, 557-563.

McGoogan B.B., D. M. Gatlin III. 1998. Metabolic requirements of red drum, *Sciaenops ocellatus*, for protein and energy based on weight gain and body composition. *The Journal of Nutrition* 128, 123-129.

McGoogan B. B., D. M. Gatlin III. 1999. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum *Sciaenops ocellatus*. I. Effects of dietary protein and energy levels. *Aquaculture* 178, 333-348.

Metz B., G.F.A. Kersten, P. Hoogerhout, H.F. Brugghe, H.A.M. Timmermans, A. Jong, H. Meirig, J. Hove, W.E. Hennink, D.J.A. Crommelin, W. Jiskoot. 2004. Identification of formaldehyde-induced modifications in proteins. *The Journal of Biological Chemistry*. 279, 6235-6243.

M'hamed, D., P. Faverdin, R. Verité. 2001 Effects of the level and source of dietary protein on intake and milk yield in dairy cows. *Animal Research* 50, 205-211.

Miller, E.L. 2004. Protein nutrition of farmed livestock and dietary supply. In: *Protein Sources for the Animal Feed Industry*, FAO Animal Production and Health Proceedings 1. Rome 2004, pp 29-76.

Miller, C.L., Davis, D.A., Phelp, R.P. 2005 The effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper, *Lutjanus campechanus* (Poey, 1860). *Aquaculture Research* 36, 52-60.

Montaño-Vargas, J., A. Shimada, P.C. Vázquez, M.T. Viana. 2002. Methods of measuring feed digestibility in the green abalone (*Haliotis fulgens*). *Aquaculture* 213, 339-346.

Morales, A. E., G. Cardenete, A. Sanz, M. de la Higuera. 1999. Re-evaluation of crude fibre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 179, 71-79.

National Research Council. 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academic Press. Washington, D.C. 114 pp.

Park, W.-Y., T. Matsui, C. Konishi, S.-W. Kim, F. Yano, H. Yano. 1999. Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soybean meal and rapeseed meal. *British Journal of Nutrition* 81, 467-471.

Rust M.B. 2002. Nutritional physiology: Halver, in J. E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition* 3rd edition. Academic Press, San Diego, pp 367-452.

Sá, R., P.Pousão-Ferreira, A. Oliva-Teles. 2006. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 12, 310-321.

Satpathy, B. B., D. Mukherjee, A. K. Ray. 2003. Effects of dietary protein and levels on growth, feed conversion and body composition in rohu *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Nutrition* 9, 17-24.

Silva, P, C.A.P. Andrade, V.M.F.A. Timóteo, E. Rocha, L.M.P. Valente. 2006. Dietary protein, growth, nutrient utilization and body composition of juvenile blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich). *Aquaculture Research* 37, 1007-1014.

Sokal, R.R, Rohlf, F.J. 1980. *Introducción a la Bioestadística*. Ed. Reverté, Barcelona. 220-225 pp.

Subuh, A.M.H., T.G. Rowan, T.L.J. Lawrence. 1996. Effect of heat or formaldehyde treatment on the rumen degradability and intestinal tract apparent digestibility of protein in soya-bean meal and in rapeseed meals of a different

glucosinolate content. Short communication. Animal Feed Science and Technology 57, 257-265.

Susmira, G., Chicco, C.F., Obispo, E. 1993. suplementación de bovinos en crecimiento y engorda con concentrados nitrogenados con y sin tratamiento con formaldehído I. ganancia de peso y digestibilidad. Zootecnia Tropical 11(2) 211-240.

Tejada, I. 1992. Control de Calidad y Análisis de Alimentos Para Animales. Secretaría de Educación Pública. México, D.F. 397pp.

Thoman, E.S., D. A. Davis, C. R. Arnold. 1999. Evaluation of growout diets varying protein and energy levels for red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture 176, 343-353.

Tibbets, S. M., S. P. Lall, D. M. Anderson. 2000. Dietary protein requirement of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) fed practical diets. Aquaculture 186, 145-155.

Torres, C.A.L. 2005. Respuesta de juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis* a diferentes concentraciones de lípidos en la dieta. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C., 84 pp.

Vandenberg, G. W., J. de la Noüe. 2001. Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of faeces collection and three digestibility markers. Aquaculture Nutrition 7, 237-245.

Vojkovich, M., J.R. Reed. 1983. White seabass, *Atractoscion nobilis*, in California-Mexican waters: Status of Fishery. CalCOFI Report 24, 79-83.

Wang, Y., J. Guo. K. Li, D.P. Bureau. 2006. Effects of dietary protein and energy levels on growth, feed utilization and body composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). *Aquaculture* 252, 421-428.

Webster, C. D., C. Lim. 2002. Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, NY USA. 418 pp.

Wilson R.P. 2002. Aminoacids and proteins in: Halver, J. E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition* 3rd edition. Academic Press, San Diego, pp 143-179.

Yang, S.-D., C.-H. Liou, F.-G. Liu. 2002. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* 213, 363-372.