

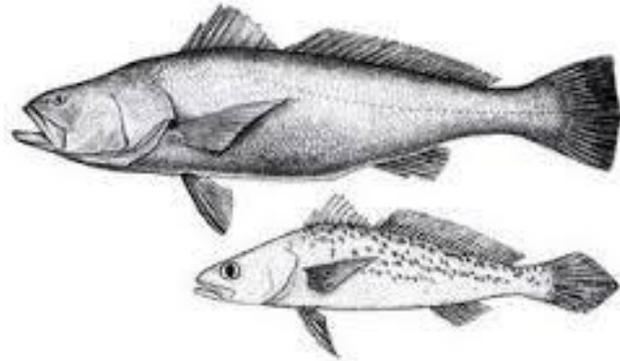
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



“Diets experimentales para juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) con diferentes inclusiones de concentrado de proteína de soya”



TESIS

Para obtener el título de:

Licenciado de Biotecnología en Acuicultura

Presenta:

Samantha Victoria Cota

Ensenada, Baja California, México

julio del 2016

**Dietas experimentales para juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) con
diferentes inclusiones de concentrado de proteína de soya**

Tesis para obtener el grado de:

Licenciado en la carrera de Biotecnología en acuicultura

Samantha Victoria Cota

Aprobada por:



Director de tesis

Dra. Lus Mercedes López Acuña



Sinodal

Dr. Mario Alberto Galaviz Espinoza



Sinodal

Dr. Conal David True

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Baja California y la Facultad de Ciencias Marinas por permitir mi desarrollo profesional dentro de sus unidades académicas.

Un enorme agradecimiento a los miembros del comité de tesis: Dra. Lus M. López Acuña, Dr. Mario A. Galaviz Espinoza y al Dr. Conal David True, muchas gracias por sus consejos, enseñanzas y sobre todo por su apoyo, sin duda fue la mejor decisión a escoger para titularme, ya que me ayudó para fortalecer y mejorar en el área personal y académica.

Al Dr. Herbert E. Quintero y al consultor Jairo E. Amézquita por sus visitas en el proyecto y brindarme sus conocimientos.

A la Asociación Mundial de la Soya (USSEC) por confiar en mi para la utilización de sus ingredientes, y la beca otorgada.

A la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) dirigida por el Dr. Conal David True, con el equipo técnico: Julio C, Segovia, Rebeca Ramírez, Andrés Vázquez, Amaury Neyra y Alan Valverde por la dedicación en la producción de peces, y con eso haber logrado el otorgar los organismos para el experimento, así como la ayuda en detalles técnicos.

A Estefana Valdenegro por su total apoyo técnico en todo el experimento, así como a Martin Cañedo por su ayuda, agradecimiento total.

A mis amigos de licenciatura: Gerardo González y Daniela Meza por ayudarme muchas veces en la etapa de experimento, a Brenda Bonnet y Miriam García por su apoyo en el proceso de datos, y por su total apoyo en toda la carrera. GRACIAS

A mis compañeros de laboratorio, los futuros doctores Idaly Trejo, Tony Budi y Miguel Escamilla, gracias por aconsejarme y aclararme muchas dudas, también al futuro licenciado José Ibarra por apoyarme en las biometrías, y el resto de los compañeros.

Al M.C. Honorio Cruz por su apoyo en el procesamiento de datos y dar consejos.

A mis padres María Ciria Cota, y Francisco Javier Victoria por brindarme la vida y apoyarme siempre en todo lo que hago.

A mis hermanos Nelva L. Victoria y Julián Victoria muchas gracias por a los dos por todo el apoyo moral y económico siempre XD.

Y finalmente a Francisco M. Pizón por su apoyo incondicional en todo lo que hago, muchas gracias.

Dedicatoria

A mi familia por su apoyo incondicional: mis padres, hermanos, tíos, ya que ellos forman parte de mi vida.

A mi hermana Nelva por ser mi uno de mis principales ejemplos 😊

A mí tío Roberto aunque ya no estás, tú también fuiste un gran apoyo DEPT

A mis amigos de carrera por siempre apoyarme de principio a fin, mantenerme y animarme cuando lo necesite, gracias por todos los momentos que pasamos de estrés y felicidad en la carrera.

Y finalmente a todos aquellos que quieran realizar una tesis, no importa lo que les digan si es difícil o no, el resultado es muy satisfactorio ya que obtienes mucha experiencia adquirida para tu formación personal y académica.

Resumen

El cultivo de peces marinos carnívoros es de gran interés en el mundo. En especies carnívoras como totoaba, especie de la familia Sciaenidae, se ha observado que requiere altos niveles de proteína en su dieta derivada de la harina de pescado, por lo que éste insumo aumenta los costos de producción, además de afectar las pesquerías de especies menores. En años recientes, la investigación se ha enfocado en la búsqueda de fuentes alternativas que replacen parcial o totalmente la harina de pescado que se utiliza en la elaboración de dietas, con el fin de cubrir los requerimientos nutricionales y no afectar el crecimiento, supervivencia y salud de los organismos. Debido a esto se realizó un experimento con juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) que fueron alimentados durante 95 días con cinco dietas experimentales donde se sustituyó parcialmente la harina de pescado por concentrado de proteína de soya con 20/80, 40/60, 60/40 y 80/20%, concentrado de proteína de soya, harina de pescado, respectivamente, así como una dieta con 100% harina de pescado. El diseño experimental se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California en Ensenada, Baja California, México, el cual consistió en un sistema semi-cerrado con 15 unidades experimentales con capacidad de 100L, donde los organismos de totoaba, fueron cultivados bajo condiciones controladas, con una talla de 13 ± 2 cm de longitud total y un peso promedio de 26 ± 2.0 g, la temperatura se mantuvo regulada a $23 \pm 1^\circ\text{C}$, con fotoperiodo 12:12 y se alimentaron 2 veces al día a saciedad durante 95 días. Al final del experimento se determinaron los diferentes parámetros de crecimiento y composición proximal de los organismos. Al final del estudio, la sobrevivencia fue de 80 a 93% sin presentar diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que el peso ganado (140.77 ± 2.78) para la dieta control fue significativamente mayor al resto de los tratamientos al igual que el factor de condición (1.18 ± 0.007). En cuanto a la conversión de alimento diario, la ración de eficiencia alimenticia y la ración de eficiencia proteica no presentaron diferencias significativas, entre tratamientos. El índice hepatosomático y viscerosomático no presentó diferencias significativas entre tratamientos, la composición proximal de pez entero presenta una tendencia a disminuir conforme aumenta la proteína de soya mientras que en los demás tejidos solo hay tendencia en los lípidos y cenizas. Los resultados encontrados en ésta investigación sugieren que es posible reemplazar hasta un 60 % de concentrado de proteína de soya sin afectar el desarrollo de juveniles de totoaba durante 95 días bajo condiciones de cultivo.

Palabras clave: Concentrado de proteína de soya, dieta práctica, nutrición de peces, *Totoaba macdonaldi*.

Índice

Introducción.....	7
Antecedentes.....	11
Objetivos	16
Objetivos generales.....	16
Objetivos particulares.....	16
Metodología.....	17
Manejo de organismos.....	17
Biometrías y obtención de muestras.....	18
Parámetros de eficiencia alimenticia.....	18
Análisis químico proximal.....	20
Análisis estadístico.....	26
Resultados.....	27
Valores de parámetros de crecimiento.....	30
Sobrevivencia, crecimientos.....	33
Análisis de valores de eficiencia alimenticia.....	36
Discusiones.....	41
Parámetros de crecimientos.....	41
Sobrevivencia.....	41
Parámetros de eficiencia alimenticia.....	42
Composición químico proximal en tejidos.....	43
Conclusión.....	45
Recomendaciones.....	45
Referencias.....	46

Introducción

A nivel mundial, la producción pesquera ha aumentado de forma constante en las últimas cinco décadas y el suministro de peces comestibles se ha incrementado a una tasa media anual del 3.2 %, superando así la tasa de crecimiento de la población mundial del 1.6 % (FAO, 2014). De manera que uno de los principales problemas a los que se enfrenta la población mundial, es el crecimiento constante, y por ende se tiene que aumentar la producción de alimentos.

El problema se complica debido a la diferencia en la economía que existe entre los países desarrollados y los que se encuentran en vías de desarrollo. En donde la acuicultura sustentable tiene un gran potencial para resolver ésta situación debido a que se encuentra relacionado al abasto y al costo de alimento proteico, los cultivos intensivo-acuícolas requieren alimentos con niveles de proteína elevados; en estas empresas de producción animal comercial, el alimento es el insumo más importante (Beltrán, 1997; Treviño, 1995).

El principal problema en un cultivo de peces marinos es la implementación de alimentos comerciales que cubran los requerimientos nutricionales de la especie a cultivar (González Acevedo, 2011). Por lo que la fuente de proteínas preferida es la harina de pescado debido al excelente perfil de aminoácidos esenciales (AAE) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPIs) que contiene, cuando su manufactura ha sido adecuada. Sin embargo, la harina de pescado es cada vez más costosa y no siempre disponible (FAO, 2014).

Los alimentos comerciales formulados para especies de producción acuícola contienen de 25 a 50% de proteína cruda (Akiyama, 1992). Por consecuencia, los

ingredientes con niveles de proteína elevados como la harina de pescado, subproductos de origen animal y las harinas de oleaginosas llegan a abarcar del 50 al 70% de la composición de la fórmula (Treviño, 1995).

De manera que para que la industria de la acuicultura de peces carnívoros marinos como la totoaba, sea rentable, sería recomendable reemplazar la harina de pescado con fuentes alternas de proteínas, como las de origen vegetal (FAO, 2014). Debido a que las proteínas de origen vegetal son mucho más baratas que las de origen animal, deben ser aprovechadas lo mejor posible en los alimentos para especies de producción acuícola (Akiyama, 1992).

Se deben elaborar alimentos con ingredientes con un perfil nutricional adecuado, económico y disponible en el mercado, de manera que una de las alternativas son las fuentes de origen vegetal (soya, trigo, maíz) (González Acevedo, 2011).

El concentrado de proteína de soya (SPC, por sus siglas en inglés) después de una serie de procesos para reducir gran parte de los factores anti-nutricionales, resulta un producto más apto para su uso en alimentos con alta cantidad de nutrientes para las especies de peces marinos y dulceacuícolas (USSEC, *The Solae Company* EE.UU. www.solae.com). La investigación identifica mayor nivel de digestibilidad de energía y nitrógeno en el SPC, que en la harina de soya, en la utilización de dietas para peces marinos, por lo que cada vez cobra más importancia en la industria acuícola como alternativa proteínica frente a la harina de pescado, ya que muchas especies acuícolas requieren altos niveles de proteína y grasa en la dieta, que en lo particular, la mayoría de los peces marinos necesitan dietas con un contenido aproximado de 40

a 55 % de proteína. De manera que la investigación cada vez más abundante, indica que el SPC es un producto proteínico de alta calidad para uso en el cultivo de algunas especies de peces marinos, camarones y como sustituto de harina de pescado en alimentos para peces dulceacuícolas que hoy usan SPC debido a sus ventajas productivas inherentes (USSEC, *The Solae Company* EE.UU. www.solae.com).



Figura 1. Concentrado de proteína de soya

Los beneficios de utilizar concentrado de proteína de soya en los alimentos acuícolas son numerosos, por ejemplo:

- El nivel de proteína bruta del concentrado de proteína de soya (65-67 %), de manera que es similar a los niveles en la harina de pescado.
- Tiene menores niveles de factores anti-nutricionales que la harina de soya.
- Tiene niveles de aminoácidos iguales o superiores a los de la harina de pescado con excepción de metionina y lisina.
- Contiene menor cantidad de ceniza que la harina de pescado.

Antecedentes

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*) es el pez carnívoro más grande de la familia Sciaenidae, llega a alcanzar longitudes de 2 metros y peso de 135 kilogramos; es una especie endémica del Golfo de California, su distribución abarca desde la desembocadura del Río Colorado hasta el Río fuerte de Sinaloa y Mulege, Baja California Sur, México (Canon, 1966; Chávez et al., 1972).

Esta especie soportó una importante pesquería durante la primera mitad del siglo XX, dando origen a muchos de los asentamientos humanos que hoy día conocemos en la parte Alta del Golfo de California. La falta de regulación en su extracción y la alteración del hábitat asociado a la disminución drástica del flujo del Río Colorado, condujeron al colapso de la actividad. El descenso extremo que se produjo en su población, promovió que a esta especie se le diera protección bajo la legislación mexicana mediante la imposición de una veda permanente a partir de 1974. Asimismo, para evitar su venta a nivel internacional, se incluyó en la Convención internacional del tráfico de especies silvestres de flora y fauna en peligro (CITES) como especie en peligro de extinción en 1976 (True et al., 2012).



Figura 2. Cultivo de totoaba.

A partir de 1993, en la Facultad de Ciencias Marinas (FCM) de la UABC, se iniciaron investigaciones para establecer las bases de su cultivo con fines de repoblación (True, 2012).

Diversos estudios se han realizado en referencia del uso de fuentes alternativas de proteínas y lípidos de origen vegetal en dietas para peces marinos en sustitución de la proteína de pescado, esto con la intención de poder encontrar una dieta que cumpla con los requerimientos nutricionales de la especie en estudio sin que se vea alterado su crecimiento, estado fisiológico y la salud del organismo (Wang et al., 2006; Wu, 2009; Oliva-Teles, 2012).

Berg et al. (1999). Realizaron dietas con concentrado de proteína para fletan (*Hippoglossus hippoglossus*) y formularon cuatro dietas que distribuyeron por triplicado en grupos, durante 12 semanas, cada dieta contenía 61 y 37% de pescado, 28 y 44% de soya. Los análisis químicos de pez entero no demostraron diferencias significativas entre los peces alimentados con la dieta de harina de pescado y aquellos alimentados con la dieta de SPC. Y ellos concluyen, SPC parece ser una buena fuente de proteínas en la dieta de fletan. Y que hasta un 45% de la proteína de la harina de pescado podría ser sustituido por SPC suplementado con metionina sin ninguna reducción en la tasa de crecimiento.

Deng *et al.* (2006) quienes realizaron un experimento donde evaluaron los efectos de la sustitución de harina de pescado con concentrado de proteína de soya en consumo de alimento y crecimiento del *Paralichthys olivaceus*, durante 9 semanas.

González Acevedo (2011) estudio la respuesta en crecimiento de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas diferentes niveles de almidón y lípidos adicionadas con un probiótico, donde los resultados mostraron que la utilización de dietas con concentraciones mayores al 10% de carbohidratos y adicionadas probiótico son una alternativa para el cultivo de juveniles de *T. macdonaldi*, que los tratamientos mantuvieron un 100% de sobrevivencia durante el experimento.

Bañuelos Vargas (2013) realizó el estudio del metabolismo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en relación a la inclusión de proteína vegetal y almidón en dietas suplementadas con taurina y su relación con el síndrome de hígado verde. Los resultados fueron que las dietas para totoaba pueden ser elaboradas con 18% de almidón y suplementadas con 1% de taurina sin repercusiones en el metabolismo intermediario y del crecimiento de estos peces. Así mismo, la taurina muestra tener un papel fundamental en el mantenimiento del sistema de defensa antioxidante y de la regulación de los niveles de daño oxidativo hepático en los juveniles de totoaba. Sin embargo, la acumulación de lípidos, glucógeno y la generalizada vacuolización de los hepatocitos parecen señalar que la totoaba puede ser susceptible a cambios en la combinación de macronutrientes (proteínas/lípidos/carbohidratos), fuente de ingredientes vegetales (almidón/proteína de soya), así como de la propia disponibilidad de taurina en la dietas. Por lo tanto, es necesario realizar mayor investigación para elucidar la significancia de estos cambios de composición y

configuración del tejido hepático sobre el estado general de la salud de la totoaba ante condiciones en cultivo prolongadas.

Velarde Sánchez (2013) evaluó el efecto en el crecimiento y desarrollo de juveniles de *T. macdonaldi* bajo condiciones de cultivo, alimentados con sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de origen vegetal. Los resultados muestran que no hubo diferencias significativas en las respuestas biológicas de los organismos alimentados con dietas formuladas con aceites vegetales, se presentan mejorías cuando se emplean combinaciones de aceites vegetales que mantienen una adecuada proporción de ácidos grasos n-3/n6.

Espinosa Acevedo (2014) estudio el efecto del contenido de proteína de soya en la dieta sobre la hematología y química sanguínea en juveniles de totoaba (*T. macdonaldi*). Los resultados de ese estudio sugieren que la salud de los peces no es afectada con un reemplazo de hasta el 45% de proteína de soya por proteína de pescado durante el período de 8 semanas de cultivo de juveniles de *T. macdonaldi*.

Pérez Arvizu (2015) realizó el estudio sobre el efecto de dietas formuladas con diferentes niveles de harina y aceite de soya sobre la actividad de enzimas digestivas, parámetros productivos y hematológicos en juveniles de *totoaba*, donde los resultados generados indicaron que se podría concluir que la harina de soya es un ingrediente que puede sustituir de manera parcial a la harina de pescado en un porcentaje máximo de 33% sin afectar los parámetros productivos, fisiológicos y hematológicos de los organismos, donde recomendó que es importante encontrar el porcentaje adecuado de sustitución de harina de soya por harina de pescado el cual se lograría establecer reduciendo el rango de sustitución desde un porcentaje mínimo

de 0% hasta 33% según los resultados de su trabajo, así como recomendó el uso de un probiótico en la formulación de las dietas para mejorar la digestión y asimilación de la harina de soya, así mismo, realizar el análisis de enzimas metabólicas para evaluar los efectos generados en el organismo por efecto de la harina de soya, además de ser necesario realizar análisis histológicos de hígado e intestino para confirmar y evaluar el daño generado en éstos órganos por efecto de la harina de soya, finalmente indico realizar análisis moleculares de hígado, intestino y estómago para analizar el comportamiento de enzimas claves involucradas en la expresión enzimática proteica.

Li *et al.* (2015), quienes realizaron una evaluación de concentrado de proteína de soya como un sustituto de la harina de pescado en las dietas de juveniles de lenguado (*Platichthys stellatus*) que duro 10 semanas donde recomiendan usar menores cantidades del 40% para la salud y crecimiento de los peces.

Objetivos

Objetivos generales

Analizar las respuestas productivas de juveniles de *Totoaba macdonaldi* cultivados con alimento elaborado a base de concentrado de proteína de soya (PisciZyme™ Gen 2.0) como sustituto de la harina de pescado.

Objetivos particulares

1. Determinar el crecimiento y sobrevivencia de juveniles de *Totoaba macdonaldi* cultivados con un alimento elaborado con concentrado de proteína de soya como sustituto de harina de pescado.

2. Determinar el consumo de alimento diario, razón de eficiencia proteica, ración de eficiencia alimenticia, índice viscerosomático y hepatosomático de los organismos alimentados con distintos niveles del concentrado de proteína de soya en dietas formuladas para juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

3. Determinar los valores proximales de las muestras al final del experimento de: pez entero, músculo, vísceras e hígado, así como de las dietas experimentales.

Metodología

El bioensayo se llevó a cabo en el laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Marinas (FCM) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) en la ciudad de Ensenada Baja California, México. Los juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) fueron donados por Unidad de Biotecnología en acuicultura (UBP), FCM-UABC.

Manejo de organismos

Los peces fueron trasladados a las instalaciones experimentales en las cuales se contó con un sistema de recirculación semi-cerrado equipado con 15 tanques de fibra de vidrio de 80 L de capacidad. Durante el bioensayo la temperatura fue mantenida a $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ con fotoperiodos 12:12 h (luz: oscuridad). La concentración promedio de la salinidad fue de 34‰ y el oxígeno fue mantenido a saturación durante todo el experimento. Previo al comienzo del experimento, los peces fueron aclimatados a las instalaciones por un periodo de dos semanas. Al Finalizar la aclimatación, 300 juveniles de totoaba (26 ± 2 g) fueron seleccionados al azar y asignados a sus respectivos tanques con una densidad de 20 peces por tanque, distribuidos de manera aleatoria en 15 tanques, cada dieta experimental se replicó en tres diferentes tanques, la alimentación fue realizada a mano hasta saciedad, dos veces al día (09:00am y 16:00pm h) durante 95 días.

Biometrías y obtención de muestras

Durante el desarrollo del experimento se llevaron a cabo 4 biometrías (considerando cada organismo de cada tratamiento) con la finalidad de registrar los pesos (g) y en talla (cm) cada 24 días aproximadamente para obtener los índices de crecimiento, mismos que fueron anestesiados con aceite de clavo (200 mg diluidos en 5 ml de etanol) el cual se vertió en un recipiente de un aproximado de 20 L. De cada tanque del stock inicial se tomaron al azar tres peces para finalizar el experimento, los cuales fueron almacenados a -20°C para realizar análisis proximales de pez entero, de la misma manera se seleccionaron otros 3 peces de cada tanque para tomar muestras de músculo, hígado y vísceras los cuales fueron congelados a -20°C para realizar futuros análisis en proximal y glucógeno. El peso húmedo de los organismos y sus respectivos hígados/vísceras fueron registrados para la determinación del índice hepatosomático y viscerosomático.

Parámetros de eficiencia alimenticia

Los parámetros eficiencia alimenticia fueron calculados usando las siguientes formulas:

Sobrevivencia (%)

$$\text{Sobrevivencia} = [(\text{Número final de peces} / \text{Número inicial de peces}) * 100]$$

Peso ganado

$$\text{PG} = \text{Peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}$$

Consumo de alimento diario

$$\text{CAD} = \text{consumo de alimento (g)} * \text{pez} * \text{días}$$

Razón de eficiencia proteica (REP)

$$\text{REP} = \text{ganancia de peso (g)} / \text{proteína total consumida (g)}$$

Razón de eficiencia alimenticia (REA)

$$\text{REA} = \text{alimento consumido g} / \text{ganancia de peso}$$

Índice hepatosomático

$$\text{IHS (\%)} = (\text{Peso hígado} / \text{peso del pez}) \times 100$$

Índice viscerosomático

$$\text{IVS (\%)} = (\text{Peso vísceras} / \text{peso del pez}) \times 100$$

Análisis químicos proximales

Se determinó los análisis de composición química en las dietas empleadas así como en tejidos (pez entero, músculo, hígado y vísceras) fueron realizados de acuerdo a los métodos descritos por la AOAC (2000) para humedad, proteína cruda y cenizas (para todas las muestras se utilizó el peso seco).

%Humedad

Humedad: Las muestras fueron secadas en una estufa Lindber/blue (Figura 3) a 105°C hasta peso constante.

- $\% \text{ Humedad} = 100 - (\text{peso muestra seca} / \text{peso muestra húmeda}) * 100$

% Cenizas

Cenizas: Se evaluó mediante la calcinación de muestra en una mufla Furnace 6000 (Figura 4) a 550°C por 8 horas.

- $\% \text{ Cenizas} = (\text{peso residuo} / \text{peso muestra}) * 100$



Figura 3. Estufa Lindber/blue



Figura 4. Mufla Furnace 6000

Proteína

Proteína: Se determinó utilizando el método micro-Kjeldahl, el cual determina la cantidad de nitrógeno total en la muestra en tres partes: Digestión, destilación y titulación. La digestión se realizó en un digestor Labconco (Figura 5), en este paso el nitrógeno orgánico se transformó en iones nitrogenados. Después la muestra fue destilada (Figura 6) liberando los iones de nitrógeno en forma de vapor, el cual fue condensado y captado en una solución de ácido bórico al 3 % y por último se llevó a cabo una titulación con ácido clorhídrico (HCl =0.02N), para determinar el porcentaje de nitrógeno de la muestra.



Figura 5. Digestor LABCONCO



Figura 6. Destilador LABCONCO

- % Proteína: $(N \cdot 0.014 \cdot \text{HCl} / \text{muestra(g)}) \cdot 100 \cdot 5 \cdot 6.25$

Dónde:

- N= Normalidad de HCl
- 0.014=constante
- HCl= volumen de ácido clorhídrico (0.02 N) utilizado durante la titulación (ml)
- Muestra=gramos de la muestra
- 100=porcentaje
- 5=ml utilizados en el destilador
- 6.25= Factor de conversión de nitrógeno a proteína

Lípidos

Lípidos: Se utilizó el método de Folch modificado. (1995), consistió en extraer los lípidos totales de una muestra, empleando la mezcla de diclorometano: metanol 1:2 respectivamente. Después de que se extraen los lípidos, la mezcla se filtró para separar los solventes. Al final se evaporó el cloroformo que contiene los lípidos en una placa thermo-block a 70°C y posteriormente se obtuvo el peso del extracto de lípidos.



Figura 7. Viales con la extracción de lípidos de las muestras.



Figura 8. Thermo block para evaporar el solvente de extracción de lípidos.

- $\% \text{ Lípidos} = (\text{Peso extracto lipídico} / \text{peso muestra}) \times 100$

Almidón

Almidón: se determinó siguiendo la metodología descrita por Thivend (1972) modificada, en donde la muestra (0.05 g y 20 ml de agua destilada) fue esterilizada en autoclave durante 1 hora. Seguido de ello se realizó una digestión con ayuda de la enzima Amiloglucosidasa durante dos horas. Las muestras fueron filtradas a través de papel Watman #4 y se aforaron las muestras a 50 ml. El contenido de almidón se cuantifico utilizando un lector de microplaca.

- $\% \text{ Almidón} = ((\text{glucosa (mg dL}^{-1}) * 0.9 * 0.001) / \text{muestra (g)}) * 100$

Dónde:

0.9= Factor de conversión de glucosa en almidón

0.001= Transformación de la concentración de glucosa de miligramos a gramos.

Glucógeno

Para realizar el cálculo de glucógeno se empleó la metodología de Plummer (1987) donde el glucógeno fue hidrolizado hasta glucosa la cual fue determinada mediante lector de microplaca.

- $\% \text{ Glucógeno} = (\text{glucosa (mg)} * 0.5 * 0.9 * 0.001 * 100) / \text{peso muestra (g)}$

0.9= factor de conversión de glucosa en glucógeno.

0.5= contenido de glucosa en dilución de muestra.

0.001= transformación de la concentración de glucosa (mg) en g.

Energía

La energía total calórica de las muestras secas de los tejidos de pez entero, músculo, hígado y vísceras, se calculó a partir de su porción proximal y con base a los valores calóricos de referencia para proteínas (23.6 kJ g^{-1}), lípidos (39.5 kJ g^{-1}) y carbohidratos (17.2 kJ g^{-1}) convertidas a kilojoules (Bureau et al., 2002).

Tabla I. Formulación e ingredientes de las dietas para juveniles de *Totoaba macdonaldi*, en las cuales se realizaron reemplazos de harina de pescado por concentrado proteico de soya. Composición proximal de las dietas.

Ingredientes (g 100g ⁻¹)	DC0	D20	D40	D60	D80
	0%	20%	40%	60%	80%
Harina de pescado ¹	487.0	396.0	285.0	177.0	67.0
Gen 2 soya²	0.0	129.5	257.7	384.6	513.8
Harina de trigo ³	327.2	267.0	220.0	158.0	102.0
Harina de calamar ⁴	30.0	30.0	30.0	35.0	40.0
HFPC ⁵	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Gluten de maíz ⁶	45.0	41.0	51.0	55.0	60.0
Aceite de pescado ⁷	21.0	40.0	59.0	82.0	103.0
Mez vitaminas ⁸	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Mez minerales ⁹	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Cloruro de colina ¹⁰	0.3	1.0	1.8	2.5	3.3
L-lisina ¹¹	0.0	3.0	2.9	2.7	2.4
DLT- metionina ¹²	0.0	3.0	2.4	4.7	5.0
vitamina C ¹³	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Rekasil ¹⁴	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Petox ¹⁵	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Micogrey ¹⁶	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Fosfato monocálcico ¹⁷	0.0	0.0	0.7	9.0	14.0
Taurina ¹⁸	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Lecitina de soya ¹⁹	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Grenetina ²⁰	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0

Harina de pescado¹, Gen 2 soya², harina de trigo³, harina de calamar⁴, HFPC⁵, gluten de maíz⁶, aceite de pescado⁷, mezcla de vitaminas⁸, mezcla de minerales⁹, cloruro de colina¹⁰, L- lisina¹¹, DLT-metionin¹², vitamina c¹³, Rekasil¹⁴, petox¹⁵, Micogrey¹⁶, taurina¹⁷, fosfato monocálcico¹⁸, lecitina de soya¹⁹, grenetina²⁰.



Figura 9. Dietas experimentales con diferente proporción de harina de pescado/ concentrado de proteína de soya.

Tabla II. Composición proximal de las dietas experimentales isoprotéicas e isocalóricas con diferentes proporciones de proteína de soya y proteína de pescado (%): 0/100 (DC0), 20/80 (D20), 40/60 (D40), 60/40 (D60), 80/20 (D80), respectivamente.

Dietas	DC0	D20	D40	D60	D80
% Proteína	47.9	48.0	48.1	47.9	48.0
% Lípidos	12.6	14.2	15.0	15.8	17.1
% Cenizas	11.5	10.6	9.8	9.3	8.1
Almidón	17.9	16.7	14.0	10.6	6.4
ELN	10.1	10.6	13.1	16.3	20.4
Kcal g⁻¹	5.0	5.2	5.2	5.3	5.4
KJ g⁻¹	21.1	21.6	21.9	22.2	22.7
Relación P:E	9.5	9.3	9.2	9.0	8.8
Relación L:C	2.5	2.7	2.9	3.0	3.2

Datos representados con media, energía (kilo-calorías por gramo (kcal g⁻¹)), kilo-joule por gramo (kJ g⁻¹), relación proteína-energía (P:E), relación lípido-energía (L:E).

Análisis estadístico

El diseño experimental fue aleatorio simple. Los datos se analizaron a través de la prueba ANOVA de una vía y se determinarán las diferencias significativas entre tratamientos por el método de Holm-Sidak con niveles de significancia de $P < 0.05$. Los datos que no cumplieron con la homogeneidad de varianzas fueron analizados a través del método de Tukey. Los resultados se reportaron como media \pm error estándar. Los resultados obtenidos fueron reportados con media y \pm error estándar. Se evaluó la distribución normal y la homogeneidad de varianza. Las diferencias entre los grupos que no presentaron homogeneidad de varianza se analizaron a través de la prueba de Dunn's. los datos que no cumplieron con la distribución de normalidad se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Resultados

Parámetros de crecimiento

Sobrevivencia

En todos los tratamientos la sobrevivencia fue superior al 80 %, y no se observaron diferencias significativas ($P=0.261$) donde DC0 presentó un 93 % y D40 un 80 % de sobrevivencia (Tabla III).

Crecimiento en peso y longitud

Los pesos y longitudes promedio de los juveniles de *Totoaba* al inicio del experimento fueron de 27.55 ± 0.06 g y 14.12 ± 0.03 cm, respectivamente, los cuales no presentaron diferencias significativas ($P=0.884$ y $P=0.342$, respectivamente).

Al termino de los 95 días del experimento los peces del tratamiento DC0 presentaron un aumento en peso (168.30 ± 3.10 g) significativamente mayor ($P<0.001$) respecto a los valores de los tratamientos D20, D40, D60, D80 (157.83 ± 0.87 , 148.23 ± 1.71 , 147.53 ± 3.38 y 126.60 ± 0.96 g, respectivamente), donde los crecimientos en longitud final de la dieta D80 demuestran que hay diferencia significativamente menor ($P<0.001$) con respecto a los demás tratamientos DC0, D20, D40 y D60 (Figura 10) (Tabla III).

En cuanto a la ganancia de peso (Figura 11) de los organismos alimentados con los diferentes tratamientos empleados, el tratamiento DC0 (140.77 ± 2.78 g) demostró una diferencia significativa mayor ($P\leq 0.001$) con respecto al resto de los tratamientos, DC0, D20, D40, D60 y D80 (140.77 ± 2.78 , 130.44 ± 0.86 , 120.50 ± 1.67 y 119.92 ± 2.95 y 99.17 ± 0.7 g, respectivamente) (Tabla III).

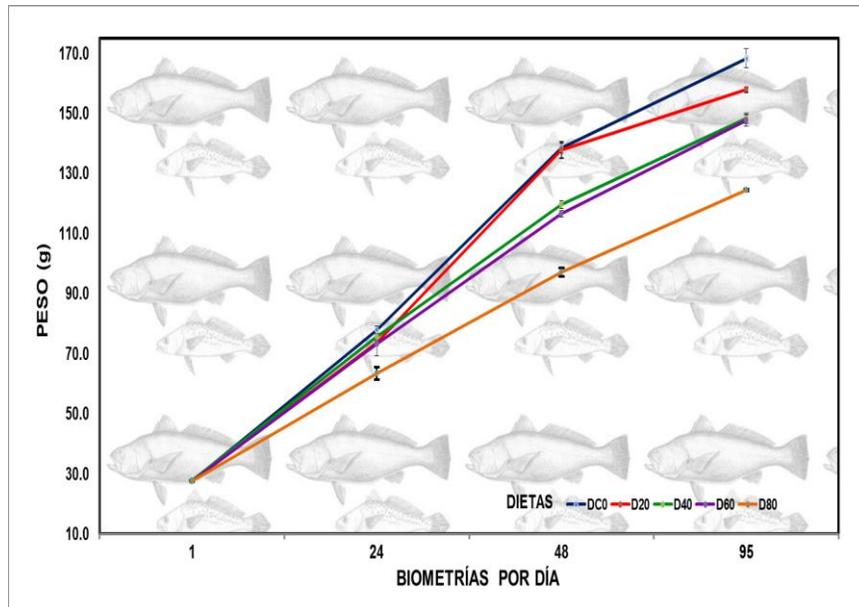


FIGURA 10. Crecimiento en peso de los juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) alimentados con dietas experimentales isoprotéicas e isocalóricas con diferentes proporciones de proteína de soja y proteína de pescado (%): 0/100 (DC0), 20/80 (D20), 40/60 (D40), 60/40 (D60), 80/20 (D80), respectivamente, durante 95 días.

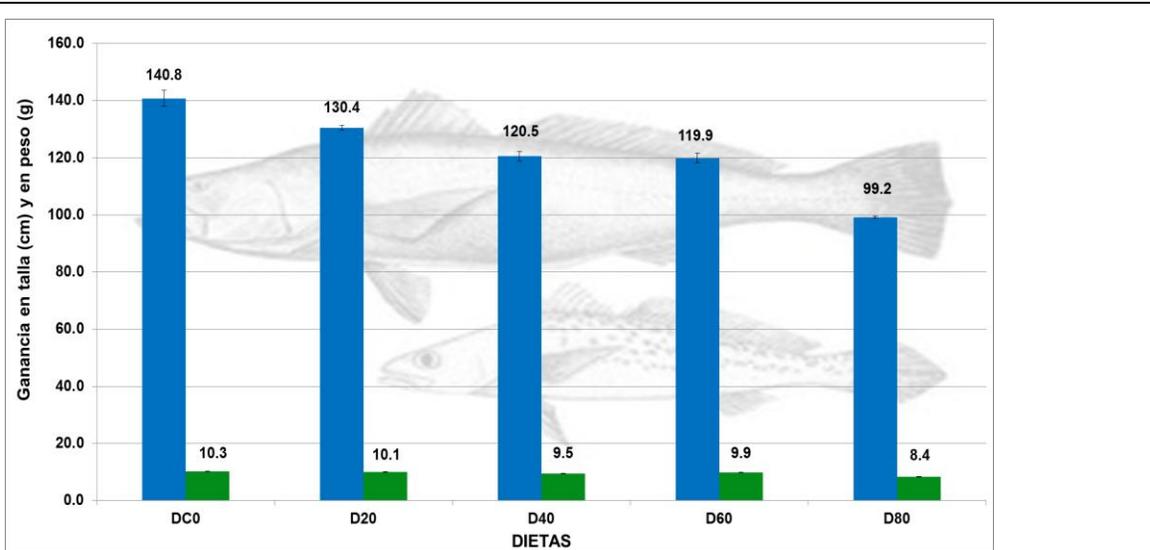


FIGURA 11. Crecimiento en ganancia de peso y talla de los juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) alimentados con dietas a diferentes proporciones de proteína de soya y proteína de pescado (%): 0/100 (DC0), 20/80 (D20), 40/60 (D40), 60/40 (D60), 80/20 (D80), respectivamente, por 95 día.

Tabla III. Valores biológicos obtenidos a partir del experimento de juveniles de totoaba alimentados con diferentes niveles de proteína de soya.

Dietas	DC0	D20	D40	D60	D80
Peso inicial (g)	27.53 ±0.32	27.39 ±0.19	27.73 ±0.12	27.60 ±0.25	27.59 ±0.23
Peso final (g)	168.30 ±3.10 ^a	157.83 ±0.87 ^c	148.23 ±1.71 ^d	147.53 ±3.38 ^d	126.60 ±0.96 ^b
Peso ganado (g)	140.77 ±2.78 ^a	130.44 ±0.86 ^c	120.50 ±1.67 ^d	119.92 ±2.95 ^d	99.17 ±0.7 ^b
Longitud inicial (cm)	14.01 ±0.06	14.07 ±0.04	14.15 ±0.07	14.20 ±0.11	14.15 ±0.01
Longitud final (cm)	24.27 ±0.19 ^a	24.13 ±0.07 ^a	23.70 ±0.10 ^a	24.00 ±0.32 ^a	22.53 ±0.28 ^b
Longitud ganada (cm)	10.26 ±0.13 ^a	10.06 ±0.10 ^{ac}	9.55 ±0.12 ^c	9.87 ±0.17 ^{ac}	8.37 ±0.29 ^b
Sobrevivencia (%)	93.33 ±1.67	86.67 ±6.01	80.00 ±2.89	85.00 ±5.00	87.50 ±7.50
IVS%	1.90 ±0.09	1.83 ±0.05	1.99 ±0.07	1.82 ±0.06	2.05 ±0.11
IHS%	1.31 ±0.06	1.17 ±0.06	1.00 ±0.08	1.14 ±0.01	1.10 ±0.08
CAD (g pez día⁻¹)*	2.37	2.08	1.95	2.10	1.42
REA	1.67 ±0.14	1.47 ±0.06	1.52 ±0.01	1.66 ±0.03	1.36 ±0.05
Factor de condición	1.18 ±0.007 ^a	1.12 ±0.014	1.11 ±0.005	1.07 ±0.010 ^b	1.11 ±0.029
REP	1.27 ±0.10 ^{ns}	1.42 ±0.06 ^{ns}	1.37 ±0.01 ^{ns}	1.26 ±0.02 ^b	1.54 ±0.05 ^a

Índice viscerosomático (IVS), Índice hepatosomático (IHS), consumo de alimento diario (CAD g pez día⁻¹), razón de eficiencia alimenticia (REA), factor de condición (g/cm³) razón de eficiencia proteica (REP), Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un P<0.05, donde a>b>c. CAD reportada con media al no pasar el test de normalidad*

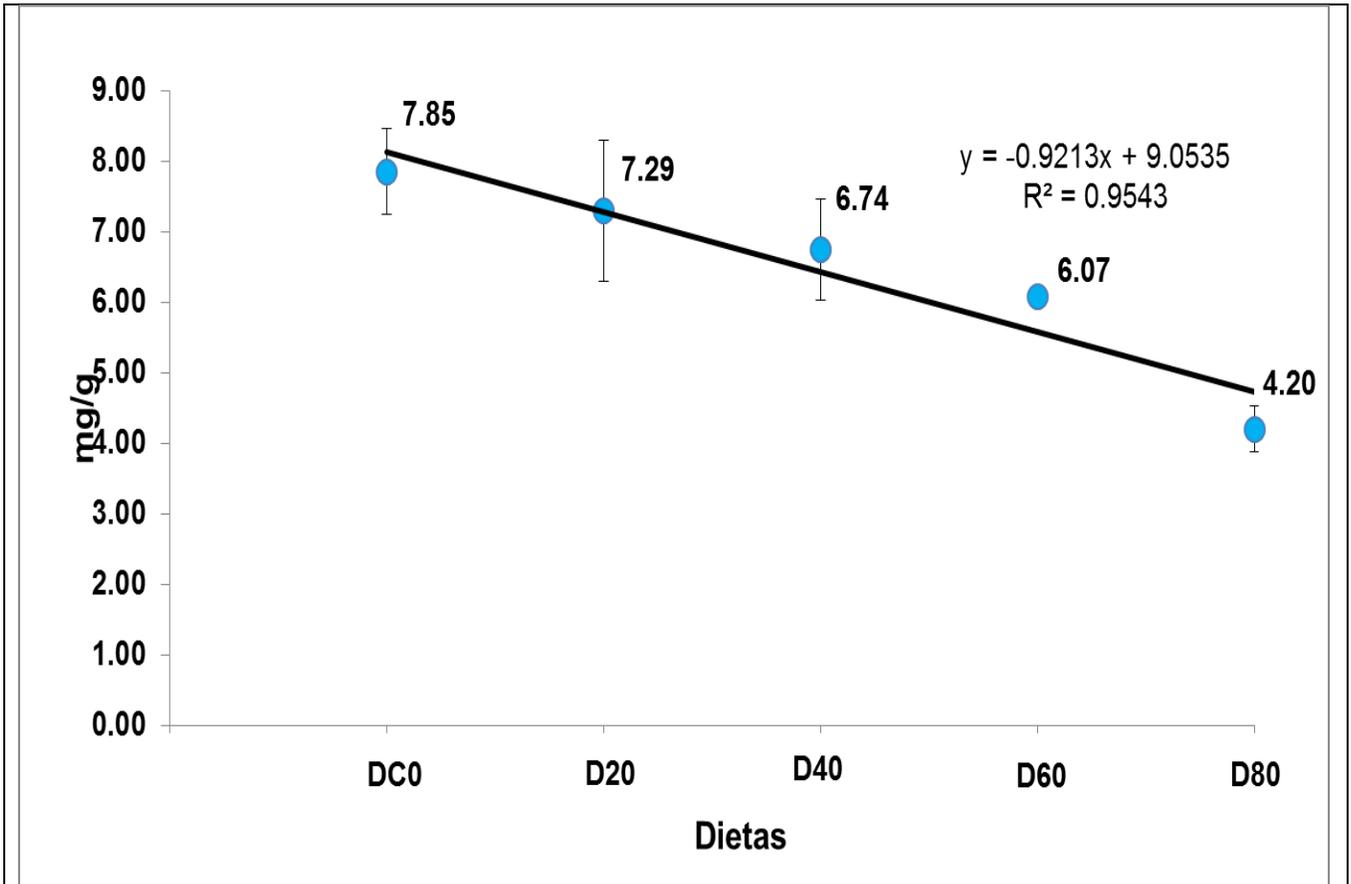


Figura 12. Glucógeno en hígado ($\text{g en } 100 \text{ g}^{-1}$ de hígado) de *Totoaba macdonaldi* cultivadas con diferentes niveles de concentrado proteico de soya, en sustitución de la harina de pescado.

Análisis de valores de eficiencia alimenticia

Glucógeno

Los resultados arrojaron una tendencia descendente con el aumento del concentrado de harina de soya, no se encontraron diferencias significativas.

Índice hepatosomático

Los valores arrojados en el IHS no presentaron diferencias significativas ($p=0.058$) entre tratamientos, sin embargo el valor más bajo observado es en el tratamiento D40 con 1.10 ± 0.08 % y el valor más alto es el tratamiento DC0 con un valor de 1.31 ± 0.06 % (Tabla III).

Índice viscerosomático

Los valores arrojados del IVS en los juveniles alimentados con los diferentes tratamientos no demostraron diferencias significativas ($P=0.161$), aunque al observar los datos denotamos que en el tratamiento D60 se encuentra con el porcentaje más bajo, 1.82 ± 0.06 % y el tratamiento D80 se encuentra con el valor más alto, 2.05 ± 0.11 % (Tabla III).

Consumo de alimento diario

Los resultados del consumo de alimento diario (CAD) no cumplieron con el test de normalidad por lo cual se utilizó el método de Kruskal-Wallis y se representaron con media.

Ración de eficiencia alimenticia

Los valores de la ración de eficiencia alimenticia (REA) no cumplieron con la homogeneidad de varianza por lo que se empleó el método de Tukey donde arrojó una $P=0.048$ sin mostrarse diferencias significativas.

Factor de condición

El factor de condición entre tratamientos no cumplió la homogeneidad de varianza por lo que se empleó el método de Tukey donde presentó una diferencia significativa ($P=0.008$) entre el tratamiento DC0 y D60 siendo significativamente mayor ($1.18 \pm 0.007 \text{ g cm}^3$) el tratamiento DC0 respecto a D60 ($1.26 \pm 0.02 \text{ g cm}^3$).

Razón de eficiencia protéica

La razón de eficiencia protéica (REP) entre tratamientos no cumplieron con la homogeneidad de varianza, así utilizando el método de Tukey en el que se presentó una diferencia significativamente mayor $P= 0.035$ en el tratamiento D80 ($1.54 \pm 0.05 \%$) con respecto al tratamiento D60 ($1.26 \pm 0.02 \%$), los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas.

Análisis de proximales

Tabla IV. Contenido proximal en muestras de pez entero y músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados por 95 días con dietas experimentales a diferentes proporciones de proteína de soya y proteína de pescado (%): 0/100 (DC0), 20/80 (D20), 40/60 (D40), 60/40 (D60), 80/20 (D80), respectivamente.

Dietas (g 100 g ⁻¹)	DC0	D20	D40	D60	D80
<i>Pez entero</i>					
Humedad	73.71	72.71	73.10	74.17	73.89
Proteína cruda	62.21 ±0.24 ^a	61.03 ±0.88 ^a	61.98 ±1.02 ^a	59.65 ±0.12 ^{ab}	57.78 ±0.51 ^b
Lípidos crudos	14.53 ±0.95 ^b	14.27 ±0.09 ^b	14.88 ±0.22 ^b	17.30 ±0.48 ^a	17.49 ±0.32 ^a
Cenizas	15.26 ±0.46 ^a	14.72 ±0.29 ^a	15.40 ±0.19 ^a	14.51 ±0.13 ^a	12.93 ±0.03 ^b
ELN	8.01 ±0.32 ^b	9.78 ±1.20 ^{ab}	7.74 ±0.71 ^b	8.54 ±0.23 ^{ab}	11.80 ±0.85 ^a
Energía (kcal g⁻¹)	5.21 ±0.07 ^b	5.20 ±0.01 ^b	5.22 ±0.02 ^b	5.35 ±0.03 ^{ab}	5.40 ±0.2 ^a
<i>Músculo</i>					
Humedad	73.77 ±0.37	74.45 ±1.05	73.26 ±0.40	74.13 ±0.54	74.94 ±0.79
Proteína cruda	66.34 ±1.81 ^b	68.49 ±1.14 ^{ab}	65.11 ±0.35 ^b	67.42 ±0.16 ^b	73.25 ±0.79 ^a
Lípidos crudos	14.53 ±0.95 ^b	14.27 ±0.09 ^b	14.88 ±0.22 ^b	17.30 ±0.48 ^a	17.49 ±0.32 ^a
Cenizas	5.61 ±0.20	5.50 ±0.13	4.96 ±0.37	6.03 ±0.06	5.47 ±0.25
ELN	22.64 ±1.76 ^a	19.51 ±1.18 ^a	23.76 ±0.66 ^a	19.05 ±0.42 ^a	14.01 ±0.56 ^b
Energía (kcal g⁻¹)	5.18 ±0.03 ^b	5.30 ±0.03 ^{ab}	5.23 ±0.02 ^b	5.29 ±0.02 ^{ab}	5.39 ±0.02 ^a

Humedad (% Humedad), extracto libre de nitrógeno (ELN = 100 - (%proteína + %lípidos + %cenizas + %humedad residual), Energía total (kcal g⁻¹). Resultados presentados con media y error estándar. Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un P<0.05, donde a>b>c. Análisis de Holm-Sidak, con el valor de la mediana análisis Kruskal-Wallis.

Pez entero

Los datos de humedad total en pez entero no cumplieron con el test de normalidad por lo que se presentan con media al utilizar el método de Kruskal-Wallis (Tabla IV).

En el contenido de proteína en peso seco se utilizó el método Holm-Sidak en donde se encontraron diferencias significativas ($P=0.004$) entre los tratamientos DC0, D20, D40 y D60 (62.21 ± 0.24 , 61.03 ± 0.88 , 61.98 ± 1.02 y 59.65 ± 0.12 %, respectivamente) con respecto al tratamiento D80 (57.78 ± 0.51 %), y no se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento D60 y D80 (Tabla IV).

Para los valores de lípidos en pez entero en peso seco, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos DC0, D20 y D40 (14.53 ± 0.95 , 14.27 ± 0.09 , 14.88 ± 0.22 %, respectivamente) siendo significativamente menores ($P=0.002$) a D60 y D80 (17.30 ± 0.48 y 17.49 ± 0.32 %) (Tabla IV).

En cuanto a el valor de cenizas se encontraron diferencias significativas menor ($P \leq 0.001$) en el tratamiento de la D80 (12.93 ± 0.03 %) con los demás tratamientos, mientras que los demás tratamientos no se encontraron diferencias significativas DC0, D20, D40 y D60 (15.26 ± 0.46 , 14.72 ± 0.29 , 15.40 ± 0.19 , 14.51 ± 0.13 %, respectivamente) (Tabla IV).

Con los valores obtenidos del extracto libre de nitrógeno se encontraron diferencias significativas entre tratamientos siendo el tratamiento D80 (11.80 ± 0.85 %) mayor ($P=0.017$) que los tratamientos DC0 y D40 (8.01 ± 0.32 , 7.74 ± 0.71 %, respectivamente), mientras que los tratamientos D20 y D60 (9.78 ± 1.20 y 8.54 ± 0.23

%, respectivamente) no presentaron diferencias significativas con el tratamiento D80 (Tabla IV).

Para la energía total calculada en pez entero se encontraron diferencias significativas mayor ($P=0.008$) en el tratamiento D80 con los tratamientos DC0, D20 y D40 (5.21 ± 0.07 , 5.20 ± 0.10 y 5.32 ± 0.02 kcal g⁻¹, respectivamente), mientras que D60 y D80 no presentaron diferencias significativas al igual que los tratamientos DC0, D20 y D40 no presentaron diferencias significativas entre sí.

Músculo

La humedad en el musculo entre tratamientos no presento diferencias significativas ($P=0.364$) (Tabla IV).

El contenido de proteína fue realizado en peso seco en musculo presento diferencias significativas entre el tratamiento D80 (73.25 ± 0.79 %) siendo mayor ($P=0.002$) que los tratamientos DC0, D40 y D60 (66.34 ± 1.81 , 65.11 ± 0.35 y 67.42 ± 0.16 %, respectivamente), mientras que no presentaron diferencias significativas los tratamientos D20 (68.49 ± 1.14 %) y D80, que a su vez los tratamientos DC0, D20, D40 y D60 no presentaron diferencias significativas entre sí (Tabla IV).

El contenido de lípidos se realizó en peso seco presentando una diferencia significativamente mayor ($P=0.002$) en el tratamiento D80 (17.49 ± 0.32 %) con respecto a los tratamientos DC0, D20 y D40 (14.53 ± 0.95 , 14.27 ± 0.09 y 14.88 ± 0.22 %, respectivamente), mientras que no hubo diferencias significativas entre la D60 (17.30 ± 0.48 %) y D80 (Tabla IV).

Los valores arrojados en cenizas no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($P=0.079$), sin embargo se puede observar en los datos que el tratamiento D40 (4.90 ± 0.37 %) fue menor a todos los tratamientos DC0, D20, D60 y D80 (5.61 ± 0.2 , 5.50 ± 0.13 y 6.03 ± 0.06 %, respectivamente), por otro lado el tratamiento D60 fue el mayor al resto de los tratamientos (Tabla IV).

Para los valores del extracto libre de nitrógeno se mostró una diferencia significativa ($P \leq 0.0001$) siendo significativamente menor el tratamiento D80 (14.01 ± 0.56 %) respecto a los tratamientos DC0, D20, D40 y D60 (22.64 ± 1.76 , 19.51 ± 1.18 , 23.76 ± 0.66 y 19.05 ± 0.42 %, respectivamente) mientras que los tratamientos DC0, D20, D40 y D60 no presentaron diferencias significativas (Tabla IV).

La energía total calculada presentó diferencias significativas ($P=0.001$) siendo el tratamiento D80 (5.39 ± 0.02 kcal g⁻¹) mayor que los tratamientos DC0 y D40 (5.18 ± 0.03 y 5.23 ± 0.02 kcal g⁻¹, respectivamente) mientras que con el tratamiento D20 y D60 (2.30 ± 0.03 y 5.29 ± 0.02 kcal g⁻¹, respectivamente) no hubo diferencias significativas, sin embargo los tratamientos DC0, D20, D40 y D60 no presentaron diferencias entre sí (Tabla IV).

Tabla V. Contenido proximal en muestras de vísceras e hígado de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados por 95 días con dietas experimentales a diferentes proporciones de proteína de soya y proteína de pescado (%): 0/100 (DC0), 20/80 (D20), 40/60 (D40), 60/40 (D60), 80/20 (D80), respectivamente.

Dietas(g 100 g ⁻¹)	DC0	D20	D40	D60	D80
Vísceras					
Humedad	77.25 ±0.88	75.08 ±0.32	76.77 ±0.58	75.92 ±0.37	77.41 ±0.62
Proteína cruda	59.22 ±1.22 ^a	52.98 ±0.85 ^b	57.19 ±2.09 ^{ab}	52.83 ±0.37 ^b	55.37 ±0.05 ^{ab}
Lípidos crudos	16.02	20.73	18.49	21.34	16.04
Cenizas	5.86 ±0.05 ^a	5.11 ±0.14 ^b	5.22 ±0.06 ^b	5.00 ±0.01 ^b	5.60 ±0.06 ^a
ELN	18.90 ±1.24 ^{ns}	21.17 ±0.59 ^{ns}	18.41 ±1.43 ^{ns}	20.83 ±0.38 ^{ns}	22.98 ±0.39 ^{ns}
Energía (kcal g⁻¹)	5.63 ±0.02 ^b	5.82 ±0.02 ^{ac}	5.79 ±0.01 ^c	5.85 ±0.01 ^a	5.85 ±0.01 ^b
Hígado					
Humedad	54.02 ±1.40	56.17 ±2.08	59.79 ±1.50	55.90 ±1.00	60.37 ±4.43
Proteína cruda	23.99 ±0.68	27.29 ±0.50	27.85 ±0.62	25.97 ±0.18	28.49 ±0.27
Lípidos crudos	58.68 ±1.70	59.95 ±2.00	52.39 ±2.39	56.84 ±2.67	53.21 ±3.65
Cenizas	2.04	2.41	2.68	2.39	2.95
ELN	18.57	15.35	16.77	15.98	14.01
Energía (kcal g⁻¹)	7.33	7.33	7.26	7.38	7.45

Extracto libre de nitrógeno (ELN = 100 - (%proteína + %lípidos + %cenizas + %humedad residual), Energía total (kcal g⁻¹). Resultados presentados con media y error estándar. Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un P<0.05, donde a>b>c. Análisis de Holm-Sidak, y algunos datos se presentan con el valor de la mediana análisis Kruskal-Wallis.

Vísceras

No se encontraron diferencias significativas ($P=0.089$) entre los valores de humedad en vísceras con los tratamientos experimentales DC0, D20, D40, D60 y D80, sin embargo al observar los valores de humedad mostrados por los tratamientos DC0 (77.25 ± 0.88 %) 100% harina de pescado y D80 (77.41 ± 0.62 %) 80/20 % proteína de soya/harina de pescado notamos un aumento respecto a los demás tratamientos (Tabla V).

El contenido de proteínas en vísceras utilizando peso seco del tratamiento DC0 (100% harina de pescado) con valor de 59.22 ± 1.22 % fue significativamente mayor ($P=0.012$) que los tratamientos D20 y D60 (52.98 ± 0.85 y 52.83 ± 0.37 %, respectivamente), sin embargo en el resto de los tratamientos D20, D40, D60 y D80 no se encontraron diferencias significativas (Tabla V).

Los valores de lípidos se procesaron en peso seco, no cumplieron con la normalidad de datos, por lo que se reportaron con la mediana y utilizando el método de Kruskal-Walis.

En cenizas se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.001$) entre los tratamientos DC0 y D80 (5.86 ± 0.05 y 5.60 ± 0.06 %, respectivamente) contra los tratamientos D20, D40 y D60 (5.11 ± 0.14 , 5.22 ± 0.06 y 5.00 ± 0.01 %, respectivamente) si embargo entre ellos no presentaron diferencias significativas (Tabla V).

Los valores de extracto libre de nitrógeno (ELN) no presentaron diferencias significativas ($P=0.034$) (Tabla V).

La energía total calculada presento diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0.001$) presentando un intervalo de 5.63 ± 0.02 a 5.85 ± 0.01 kcal g⁻¹ (Tabla V).

Hígado

Los valores de humedad en hígado no cumplieron con la homogeneidad de varianza por lo que se utilizó el método de Tukey y no presentaron diferencias significativas ($P=0.120$) con valores de 54.02 ± 1.40 a 60.37 ± 4.43 % (Tabla V).

Respecto a los valores de proteína en hígado se realizó mediante peso seco, en donde no se cumplió con la homogeneidad de varianza y se utilizó el método de Tukey, no presento diferencias significativas ($P \leq 0.001$) (Tabla V).

Los valores obtenidos de lípidos en hígado mediante peso seco no presentaron diferencias significativas ($P=0.665$) entre tratamientos habiendo un intervalo de 52.39 ± 2.39 a 59.95 ± 2.00 % (Tabla V).

Para los valores en cenizas no cumplieron con los rangos de normalidad ($P=0.059$), por lo que se utilizó el método de Kruskal-Wallis y así reportando la mediana sin presentar diferencias significativas entre tratamientos y siendo el tratamiento DC0 el valor más pequeño (2.04 %) y aumentando los porcentajes de ceniza conforme aumenta la inclusión de proteína de soya en las dietas terminando con el valor mayor en el tratamiento D80 (2.95 %) (Tabla V).

El extracto libre de nitrógeno en hígado no cumplió con el test de normalidad ($P=0.261$) por lo que se utilizó el método Kruskal-Wallis presentándose así datos con mediana (Tabla V).

Los valores de energía total calculada no cumplió el teste de normalidad (P=0.305) utilizando el método Kruskal-Wallis y presentando datos con mediana con intervalos de 7.20¹ a 7.53 kcal g⁻¹ (Tabla V).

Discusiones

Parámetros de crecimiento

Sobrevivencia

Al final del experimento los organismos de los diferentes tratamientos presentaron una sobrevivencia de mayor al 80 % durante los 95 días, sin embargo alrededor de un 10 % de las mortalidades se ocasionaron por error técnico en el manejo de las redes para evitar que se salieran de los tanques, donde el tratamiento D80 80 % harina de soya presento un menor valor de talla y peso, respectivo a los demás tratamientos, en cuanto a los organismos físicamente se presentaban muy delgados. Estos resultados son similares a los de Li et al. (2015), quienes realizaron una evaluación de concentrado de proteína de soya como un sustituto de la harina de pescado en las dietas de juveniles de lenguado (*Platichthys stellatus*) que duro 10 semanas donde recomiendan usar menores cantidades del 40% para la salud y crecimiento de los peces, y Pérez Arvizu (2015) quien realizo un experimento donde evaluó analizar el efecto de dietas formuladas con harina y aceite de soya sobre los efectos digestivos, productivos, hematológicos, fisiológicos y metabólicos de totoaba durante 60 días, y su resultado en su tratamiento de 100 %harina de soya presento un valor menor con respecto a sus demás tratamientos con menor inclusión de soya.

Crecimiento

Con el propósito de analizar las respuestas de los diferentes parámetros de crecimiento de los juveniles de totoaba, en el presente estudio se probaron 5 dietas experimentales isoprotéicas e isocalóricas con diferentes proporciones de proteína de soya y proteína de pescado, dicho experimento se realizó durante 95 días, el

tratamiento que obtuvo el crecimiento en mayor peso fue la dieta control DC0 con un valor de 168.30 ± 3.10 g con 100 % harina de pescado y el tratamiento de menor crecimiento fue D80 con un valor de 126.60 ± 0.96 g 80/20 % de proteína de soya/harina de pescado, respectivamente. Los crecimientos en peso disminuyeron conforme a la inclusión de proteína de soya al igual que los crecimientos en talla, presentando diferencias significativas entre tratamientos con resultados similares por Deng *et al.* (2006) quienes realizaron un experimento donde evaluaron los efectos de la sustitución de harina de pescado con concentrado de proteína de soya en consumo de alimento y crecimiento del *Paralichthys olivaceus*, durante 9 semanas, también Espinosa Acevedo (2014) quien evaluó la respuesta hematológica y de química sanguínea en juveniles de totoaba alimentados con diferentes concentraciones de proteína de soya en las dietas durante 57 días, presentó que a mayor inclusión de soya menor ganancia de peso.

En un trabajo referente a totoaba, Pérez Arvizu (2015), presento diferencias significativas en las ganancias de peso y talla. Al final del experimento encontramos que en la dieta con mayor porcentaje de concentrado de proteína de soya contiene mayor lípido, es donde se encontró el valor más bajo en cuanto peso ganado, Velarde Sánchez (2013) quien realizó un experimento de 10 semanas donde evaluó el efecto en el crecimiento y desarrollo de juveniles de *totoaba* bajo condiciones de cultivo, alimentados con sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de origen vegetal quien recomienda utilizar combinaciones de aceites vegetales que mantienen una adecuada proporción de ácidos grasos n-3/n6, de manera que no encontró diferencias significativas en pesos ganados.

González et al 2014, quienes realizaron una evaluación del concentrado de la proteína de soya como reemplazo de harina de pescado en dietas prácticas para juveniles de tinca (*Tinca tinca L.*), evaluaron la supervivencia, crecimiento y composición corporal en un experimento de 90 días con juveniles de 5 meses, con diferentes 8 dietas 0, 25, 35, 45, 55, 65, 75 y 100 % SPC, no se encontraron diferencias significativas en los valores de crecimiento En los niveles más altos de reemplazo (del 55% al 100%), pescado tuvo un crecimiento significativamente menor ($P < 0,05$). Los peces alimentados desde 0% a 45% las dietas de reemplazo había un número significativamente menor ($P < 0,05$).

Parámetros de eficiencia alimenticia

Entre los valores biológicos como el índice hepatosomático y viscerosomático no presentaron ninguna tendencia ni diferencia significativa, en cuando al consumo diario de alimento y la ración de eficiencia proteica (REP) tampoco se observó una tendencia, sin embargo en la REP se encontró una diferencia significativamente mayor ($P = 0.035$) en la dieta 80 (1.54 ± 0.05) contra la dieta 60 (1.26 ± 0.02), resultados similares a Velarde Sánchez (2013) quien no demostró diferencias significativas en los análisis de índice hepatosomático y viscerosomático, también encontró que en consumo y ración de eficiencia proteica no hubo tendencia ni diferencias significativas, mientras que Pérez Arvizu (2015) demostró un incremento sucesivo ante la inclusión de aceite de soya con diferencias significativas.

Composición proximal de pez entero, músculo, hígado y vísceras.

El contenido químico proximal que presentaron los organismos fueron, diferencias significativas de proteínas y lípidos en cuerpo de pez entero y músculo al ser

alimentados con dietas experimentales con diferente inclusión de concentrado de proteína de soya en remplazo de harina de pescado, un resultado coinciden con lo reportado en un estudio similar con el uso del concentrado de proteína de soya y nuevos ingredientes en la eliminación total de las harina de pescado y aceite de pescado en las dietas para juveniles de cobia (*Rachycentron canadum*) realizado por Guillaume et al, 2010 quienes realizaron un experimento donde realizaron 2 pruebas de alimentación que dieron lugar a la sustitución total de la harina de pescado y aceite de pescado en juveniles de cobia (*R. canadum*). En donde presentaron diferencias significativas en proteína de musculo.

Berg et al. (1999). Realizaron dietas con concentrado de proteína para fletan (*Hippoglossus hippoglossus*) y formularon cuatro dietas que distribuyeron por triplicado en grupos, durante 12 semanas, cada dieta contenía 61 y 37% de pescado, 28 y 44% de soya. Los análisis químicos proximales de pez entero no demostraron diferencias significativas entre los peces alimentados con la dieta de harina de pescado y aquellos alimentados con la dieta de SPC. Y ellos concluyen, SPC parece ser una buena fuente de proteínas en la dieta de fletan. Y que hasta un 45% de la proteína de la harina de pescado podría ser sustituido por SPC suplementado con metionina sin ninguna reducción en la tasa de crecimiento.

No se encontraron diferencias significativas en proximales de hígado (humedad, proteína, lípidos, cenizas) así como en el índice hepatosomático, Berg et al. 1999. El porcentaje de rendimiento y el índice hepatosomático no se vieron afectados significativamente por la fuente de proteína, resultados similares a Velázquez García (2012) quien realizó una evaluación del uso de aceites de origen vegetal: soya, maíz

y linaza, en la elaboración de dietas formuladas para el cultivo de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) como remplazo de aceite de pescado, y obtuvo como conclusión que los valores de proximales e índice hepatosomático fueron muy similares entre los diferentes tratamientos y no se presentaron diferencias significativas, tampoco se presentaron diferencias significativas en el crecimiento (g) de las corvinas blancas alimentadas con los diferentes tratamientos con sustitución de aceite de pescado por aceites de soya, maíz y linaza, los cuales lograron aumentar 10 veces su peso inicial durante 60 días de cultivo, y finalmente la utilización de aceite de pescado como remplazo parcial (25%) por aceites de origen vegetal como soya, maíz y linaza pueden ser una alternativa en la elaboración de dietas formuladas para cultivo de corvina blanca.

Conclusiones

Es posible utilizar hasta un 60% de soya PisciZyme™ Gen 2.0 con buenos rendimientos y desarrollo de los organismos de juveniles de totoaba

No se observó un efecto negativo en el contenido químico proximal de los tejidos.

Para un rendimiento significativamente similar sería aconsejable utilizar un 20% de inclusión del concentrado de proteína de soya ya que los valores son muy cercanos a los de una dieta con 100 % harina de pescado.

Recomendaciones

Es recomendable realizar análisis hematológicos para tener mayor validez el estado de salud de los organismos

Referencias

- Álvarez, P. Ramírez, C. y Orbe, A., 1999. Desarrollo de la acuicultura en México y perspectivas de la acuicultura rural. Red de Acuicultura Rural en Pequeña Escala. pp. 38
- Akiya, D.M. 1992. Utilización de la pasta de soya en los alimentos acuícolas. Asociación americana de soya. ASA/MEXICO no 18.1a Reimpresión 20pp
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC. 16th edition. Arlington, VA.
- Bañuelos Vargas, M.I. 2013. Estudio del metabolismo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en relación a la inclusión de proteína vegetal y almidón en dietas suplementadas con taurina y su relación con el síndrome de hígado verde. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. pp 3, 6 -133
- Beltrán E. 1997. La ciencia para todos. Biología México. http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/090/html/sec_5.html
- Berg, G. M. Grisdale-Helland, B, Helland, S.J. 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossu*). Aquaculture 178,139–148.
- Chávez H. 1973. Descripción de los ejemplares juveniles de totoaba, *Cynoscion macdonaldi* Gilbert. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 34: 293-300.
- Canon R. 1966. The Sea of Cortes. Lane Magazine and Book Co. Menlo Park California.
- Deng J. Kangse A. Qinghui A. Wenbing Z. Xiaojie W. 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 258, 503-513
- Espinosa Acevedo, H. M. 2014. Efecto del contenido de proteína de soya en la dieta sobre la hematología y química sanguínea en juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. pp 41

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2015
<http://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/formulacion-y-preparacion-produccion-de-alimentos/es/>
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509.
- González Acevedo, D. 2011. Respuesta en crecimiento de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas diferentes niveles de almidón y lípidos adicionadas con un probiótico. Tesis de maestría. UABC-FCM
- González-Rodríguez .Álvaro, Domingo Celada. Jesús, Carral. José Manuel, Sáez-Royuela. María, García. Vanesa, Bautista Fuertes .Juan. 2014. Evaluation of Soy Protein Concentrate as Replacement of Fish Meal in Practical Diets for Juvenile Tench (*Tinca tinca* L.). *Turkish Journal of Fisheries Aquatic Sciences.* 14: 807-815
- Guillaume Salze, Ewen McLean, P. Rush Battle, Michael H. Schwarz Stev, en R. Craig. 2010. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture.* 298, 294-299
- Halver J. E., Hardy R. W. 2002. Nutrient flow and retention. En: J. E., Hardy R. W. (Eds.). *Fish nutrition.* Academic press, USA.
- Hardy R. W., Barrows F. T. 2002. Diet formulation and manufacture. En: Halver J. E., Hardy R. W. (Eds.). *Fish Nutrition.* Academic press, USA.
- Li .P.Y. Wang J.Y. Song Z.D. Zhang L.M. Li X. X Pan Q. 2015. Evaluation of soy protein concentrates as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture* 448, 578-585
- López, L.M., Durazo, E., Rodríguez Gómez, A., True, C.D., Viana, M.T. 2006. Composición proximal y perfil de ácidos grasos de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*. *Ciencias Marinas.* 32, 303-309.
- Oliva, Teles, A. 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* 35, 83–108.

- Pérez Arvizu, M, L, P. 2015. Efecto de dietas formuladas con diferentes niveles de harina y aceite de soya sobre la actividad de enzimas digestivas, parámetros productivos y hematológicos en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. pp.
- Plummer, P. 1987. Glycogen determination in animal tissues, An Introduction to Practical Biochemistry 3rd edn. McGraw Hill Book, Maiden head. 332 pp
- Solorzano, Salazar. Y. 2006. Efecto de niveles de alimentación sobre el crecimiento y composición química de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. pp 2, 4,8, 36
- Trejo Escamilla I. López-Acuña L.M, Galaviz-Espinoza Mario A., Giffard-Mena Ivone y True Conal D. 2013. Resultados preliminares del estudio: efecto de la condición nutricional de juveniles de *Totoaba macdonaldi* al ser alimentados con dietas con proteína de soya en sustitución de la proteína de pescado. Reunión anual de estudiantes de ecología molecular y biotecnología "Dr. Jorge de la Rosa Vélez" Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. Pág.26
- Treviño Carrillo, L.M. sin año de referencia. Universidad Autónoma de Nuevo León. D.F. México.PDF
- True C.D., 2012. Desarrollo de la biotecnia de cultivo. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. pp 45
- Velarde Sánchez, J, R. 2013. Efecto del crecimiento de juveniles de *Totoaba macdonaldi* bajo condiciones de cultivo, alimentados con sustitución parcial de aceite de pescado por aceites de origen vegetal. Tesis Licenciatura. UABC-FCM, Baja California, México. pp 50
- Vizcaíno Pérez, E. 2008. Efecto en el crecimiento, consumo, sobrevivencia y composición proximal de juveniles de *Totoaba macdonaldi*, alimentados con dietas isoprotéicas formuladas con distintos niveles de energía. Tesis Licenciatura. UABC-FCM. Ensenada, Baja California, México, .pp 76

Wang, Y., Kong, L-J., Li, C., Bureau, D.P. 2006. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). *Aquaculture* 261, 1307–1313.

Wu, G. 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* 37, 1-17.