

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



Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave en el perfil de ácidos grasos y crecimiento en juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS PARA OBTENER  
LA LICENCIATURA DE

**OCEANÓLOGO**

PRESENTA

**Alma Edith Carpio Ramírez**

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. MAYO DEL 2013

Facultad de Ciencias Marinas

Efecto de la substitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave en el perfil de ácidos grasos y crecimiento en juveniles de *Tofoaba macdonaldi*.

TESIS



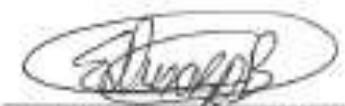

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS PARA OBTENER  
LA LICENCIATURA DE

OCEANÓLOGO

PRESENTA

**Alma Edith Carpio Ramirez**

Aprobada por:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. María Teresa Viana Castrillón  
Directora de tesis  
\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Gabriel Corea Reyes  
Sinodal  
\_\_\_\_\_  
Dr. Eduardo Durazo Beltrán  
Sinodal  
\_\_\_\_\_  
Dr. Victor Antonio Zavala Hamz  
Sinodal

Efecto de la substitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave en el perfil de ácidos grasos y crecimiento en juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

Resumen

Se evaluó el efecto de substitución parcial y total en cuatro niveles de harina de pescado por harina de subproducto de ave (0, 33, 67, 100 %) en alimentos balanceados para juveniles de *Totoaba macdonaldi*, evaluando el crecimiento, sobrevivencia, contenido proteico, contenido lipídico y perfil de ácidos. El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de CICESE. Se utilizaron 300 juveniles de totoaba ( $2.7 \pm 0.0\text{g}$ ) los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 12 estanques (25 peces por estanque) correspondiente a cuatro tratamientos con tres repeticiones cada uno. Durante la primera semana de experimentación, se obtuvo una mortandad de los peces del tratamiento 100 HA, los cuales fueron repuestos por 75 peces que a pesar de ser del mismo lote presentaron una talla mayor ( $6.4 \pm 0.2\text{g}$ ). Al terminar el bioensayo después de 86 días de experimentación se obtuvo un crecimiento mayor para el tratamiento 67 HA en términos de peso final y porcentaje total de crecimiento ( $53.2 \pm 1.8\text{ g}$ , 2002.3%, respectivamente) y menor para el 100HA ( $20.7 \pm 3.4\text{ g}$  y 323.9%, respectivamente). La sobrevivencia observada fue de casi el 90% (67 HA) disminuyendo drásticamente para el 100HA con el 52.4%. La composición proximal del músculo de los organismos colectados al inicio y final de la experimentación no mostraron diferencias significativas en lípidos y proteínas (1.3 al inicio y al final valores entre 2.1 a 2.3% en lípidos, y de 81.1 a 82.7 % en proteínas), por otro lado en cenizas si se mostraron diferencias significativas con relación al inicio de la experimentación con un valor de 8.9% al inicio a valores entre 4.8 a 6.1% entre los distintos tratamientos experimentales. El perfil de ácidos grasos contenidos en el músculo de totoaba muestra que no hay diferencia entre los ácidos grasos saturados a excepción del ácido esteárico (C18:0), algunos con diferencias entre los insaturados, en donde los PUFAs decrecen proporcionalmente con la inclusión de la HA con un efecto en la disminución de la relación EPA/DHA que va de 0.7 a 0.4 (para 0HA y 100HA, respectivamente). Por ende, la relación n3/n6 también se vio afectada con valores de 4.7 a 0.3 (para 0HA y 100HA, respectivamente). Se concluye que la combinación de la harina de subproducto de ave y de harina de pescado resulta en un mejor crecimiento que cualquiera de ellas sola y la cantidad mínima de EPA Y DHA para maximizar el crecimiento en totoaba es de  $3.00\text{ mg g}^{-1}$  y  $4.58\text{ mg g}^{-1}$  respectivamente, equivalente a una relación de 1:1.5.

*Palabras clave:* *Totoaba macdonaldi*, Harina de subproducto de ave, Ácidos grasos.

## **DEDICATORIA**

***La presente tesis se la dedico a mi familia, por siempre estar a mi lado brindándome su apoyo, sus consejos tan útiles para que esto se llevara a cabo.***

***Gracias michis, por tu gran apoyo a lo largo de estos años.***

***A mis hermanas Ivonne y Alejandra, por esas sabias palabras de somos 4 y siempre lo seremos, palabras que siempre me motivaron a seguir adelante.***

***A mi cuñis Jorge y mi niño Alexis.***

***A mis titis Liborio y Yesenia que son parte importante de mi formación, y por siempre apoyarme en mis locuras.***

***A mi abuelita Socorro.***

***¡Tengo suerte de tenerlos a mi lado!***

## **AGRADECIMIENTOS**

A **CONACYT** por la beca otorgada como ayudante de Investigador Nivel III.

A la **Dra. Maria Teresa Viana Castrillón**, por darme esta gran oportunidad de formar parte del laboratorio de Nutrición y Fisiología durante 5 años, por su apoyo, sus consejos y recomendaciones para que se llevara acabo esta tesis.

Al Dr. **Gabriel Correa**, por el apoyo y confianza brindados en el transcurso de este trabajo y a lo largo de la carrera.

Al Dr. **Victor Zavala**, por la confianza, consejos y paciencia brindados a lo largo de la carrera y observaciones en el presente trabajo.

Al Dr. **Durazo Beltrán**, por las observaciones realizadas a lo largo del presente trabajo

A **Griselda**, por su apoyo en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología (IIO).

A mis maestra **Patricia Alvarado**, gracias por la confianza siempre brindada.

A **Daniel Badillo**, por permitirme formar parte de su trabajo de tesis y todas observaciones y recomendaciones para esta tesis.

A mis compañeros de laboratorio, **Servando, Jaime, Marco, Paola, Victoria, Fernando, Jorge, Selene, Ivette y Martha**.

A mis amigos, **Julia, Yahaira, Gaby, Rocio, Cañedo, Mary, Nadia, Vicky, Irma, Miguel, Isabel (Marichuchis), Betty, Denisse**.

## CONTENIDO

	Página
I. Introducción .....	1
I.1. Lípidos.....	2
I.2. Ácidos grasos.....	3
II. Antecedentes.....	8
III. Hipótesis.....	11
IV. Objetivo general.....	11
IV.1. Objetivos particulares .....	11
V. Materiales y métodos.....	12
V.1.Elaboración de dietas .....	12
V.2. Procedimiento experimental .....	14
V.3. Análisis proximales .....	16
V.4. Extracción de lípidos totales y análisis de ácidos grasos.....	16
V.5. Análisis estadístico .....	18
VI. Resultados.....	19
VI.1. Dietas experimentales .....	19
VI.1.2. Análisis proximales de las dietas .....	19
VI.1.3. Composición de ácidos grasos en dietas.....	19
VI.2. Índices biológicos .....	22
VI.3. Análisis proximales en músculo de totoaba .....	23
VI.4. Composición de ácidos grasos en músculo de totoaba .....	24
VII. Discusión .....	27
VIII. Conclusiones .....	31
IX. Literatura citada.....	32
X. ANEXO I .....	39

## ÍNDICE DE CUADROS

## Página

<b>Cuadro I.</b> Composición de dietas experimentales formuladas con cuatro niveles de sustitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave, elaboradas para alimentar a juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> .	<b>12</b>
<b>Cuadro II.</b> Perfil de AG's de las harinas de pescado (HP), Harina de subproducto de ave (HA) y Aceite de pescado (AP). Las cantidades están reportadas como g de AG/100g de contenido de lípidos.	<b>13</b>
<b>Cuadro III.</b> Composición proximal de las dietas experimentales con cuatro niveles de sustitución de la harina de pescado por harina de subproducto de ave, para juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> .	<b>20</b>
<b>Cuadro IV.</b> Perfil de AG's en dietas con cuatro niveles de sustitución de la harina de pescado por harina de subproducto de ave para <i>Totoaba macdonaldi</i> . Valores en $mg\ g^{-1}$ de dieta.	<b>21</b>
<b>Cuadro V.</b> Índices biológicos en juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> después de haber sido alimentados durante 86 días, con dietas conteniendo cuatro niveles de sustitución de harina de pescado por subproductos de ave.	<b>22</b>
<b>Cuadro VI.</b> Composición proximal de músculo en juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> después de 86 días de alimentación.	<b>23</b>
<b>Cuadro VII.</b> Perfil de AG's en músculo en juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dietas conteniendo cuatro niveles de sustitución de harina de pescado por harina de subproductos de ave. Valores en $mg\ g^{-1}$ de músculo.	<b>26</b>

## I. Introducción

La acuicultura se ha convertido en uno de los sectores con mayor crecimiento en el mercado mundial de alimentos. Esto obedece a la necesidad de suministro de productos con calidad constante y la oportunidad de atractivos rendimientos en este sector (Lovell, 1992). Además de ser uno de los que presenta mayor oportunidad de crecimiento ya que el sector pecuario se encuentra a un nivel de saturación.

Para poder llevar a cabo el cultivo de especies marinas es de suma importancia conocer sus requerimientos nutricionales para poder formular y elaborar dietas a un costo bajo y con eficiencia alimenticia, de tal forma que los organismos incrementen su talla con un mínimo de alimento por unidad de peso. Esto se logrará cuando se utilicen los ingredientes necesarios para que puedan crecer, y desarrollarse con un buen estado de salud. Esto repercutirá en la calidad del producto para consumo humano (Villareal-Rodarte, 2011).

La harina de pescado es la principal fuente proteica utilizada en la formulación de alimentos para organismos acuáticos debido a su alto contenido de proteína cruda y a su perfil de aminoácidos esenciales (AAE) (Zhoug *et al.*, 2004). Esto hace que sea una fuente de proteína ideal para formular las dietas para acuicultura. Así mismo, la harina de pescado contribuye de manera importante con ácidos grasos esenciales (AGE),

energía digestible, vitaminas y minerales necesarios para la mayoría de los peces. Además de esto, proporciona una buena palatabilidad y un alto coeficiente de digestibilidad en las dietas (Peters *et al.*, 2004). Sin embargo, este producto está llegando a su límite de producción, lo cual se refleja en la baja disponibilidad en el mercado internacional dando lugar a que este ingrediente sea el de mayor costo en la formulación de alimentos acuícolas.

Se reporta que la harina de pescado se cotiza hasta en \$2,100 dólares americanos por tonelada y hasta \$1,900 en el caso del aceite de pescado (Com. pers. Lilia Marín, Protmargo, SA de CV). Lo anterior hace que sea urgente la búsqueda y evaluación de fuentes alternativas como soya y subproductos de animales terrestres (aves, cerdos, sangre, etc.); así como fuentes de aceites vegetales (maíz, coco, girasol, palma y canola).

Estas fuentes alternativas deberán mostrar una calidad similar a la encontrada en la harina de pescado, como el perfil y contenido de aminoácidos, mientras que los aceites deberán contener la cantidad necesaria para cada especie, de ácidos grasos esenciales, como los encontrados en las fuentes marinas (Badillo-Zapata, 2009).

## **I.1. Lípidos**

Son moléculas hidrofóbicas que en su mayoría contienen o son derivados de los ácidos grasos (AG's). Los lípidos tienen muchas funciones biológicas. Los triglicéridos son la reserva energética más grande del organismo, los fosfolípidos, glicolípidos y colesterol son constituyentes

importantes de las membranas biológicas. Otros lípidos son importantes para la señalización como las hormonas esteroideas, y los eicosanoides, incluyendo las prostaglandinas son importantes para la comunicación celular (Devlin, 2011).

## **I.2. Ácidos grasos**

Los ácidos grasos se encuentran conformados principalmente por triglicéridos, los cuales contienen ácidos grasos de diferente longitud, con o sin saturaciones en el esqueleto hidrocarbonado. Característica importante que les da flexibilidad y capacidad estructural, en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados, como componentes principales de la membrana celular, mientras que los ácidos grasos saturados y monosaturados constituyen un importante aporte energético para el organismo (Mckee y Mckee, 2003).

Debido a la capacidad de síntesis de ácidos grasos que presenten los organismos es como se determina su esencialidad. Los ácidos grasos esenciales (AGE) son todos aquellos que el organismo no puede sintetizar y por esta razón es esencial su consumo. Éstos tienen funciones fisiológicas fundamentales y son precursores de varios metabolitos importantes, mientras que los no esenciales (AGNE) podrían sintetizarse a partir de otras biomoléculas como carbohidratos y proteínas.

De acuerdo al número de carbonos e insaturaciones los ácidos grasos se clasifican en saturados, monosaturados y poliinsaturados. Los saturados

contienen todos sus enlaces simples y saturados, mientras que los monosaturados presentan un doble enlace, y los poliinsaturados presentan dos o más dobles enlaces, estos se llamarán de la familia n-3 cuando su primer doble enlace se encuentre en el tercer carbono, y de la familia n-6 cuando el primer doble enlace se encuentre en el sexto carbono (Devlin, 2011).

Para su utilización e integración dentro de las membranas celulares, los organismos no distinguen entre los ácidos grasos n-3 y n-6, mientras que para nivel fisiológico ambos son necesarios. Por esta razón es de suma importancia guardar una relación precisa entre la cantidad de n-3 y de n-6 presente en la dieta (Sargent *et al.*, 2002). De no cumplirse esta condición, el organismo sufre una reducción en la velocidad de crecimiento, alteraciones en la reproducción y patologías diversas (Montero y Izquierdo, 2000).

Se sabe que los ácidos grasos con dobles ligaduras (insaturaciones) no son utilizados preferentemente como fuente energética, ya que precisamente ésta no es oxidada directamente, de tal manera que ésta tendría primero que romperse la doble ligadura, lo cual energéticamente es más costoso (Sargent *et al.*, 2002). Gracias a esta propiedad es que los ácidos grasos esenciales son conservados preferentemente y utilizados para funciones estructurales (membrana celular) y/o metabólicas. Estos AG's poliinsaturados son más importantes mientras más frío sea el medio ambiente, sobre todo en los organismos marinos que no controlan su temperatura corporal, ya que mientras más baja sea la temperatura del

medio ambiente, más importante es la presencia de los ácidos grasos poliinsaturados en la membrana celular para permitirle fluidez. Por lo anterior, los AG's poliinsaturados (PUFAs) son esenciales para la conformación de la membrana en peces de agua fría, en especial los de cadena larga de 20 y 22 carbonos y tres insaturaciones (los LC-PUFA n-3 como EPA y DHA).

Por otro lado, así como los peces requieren éstos ácidos grasos para su desarrollo óptimo, también los humanos necesitan obtener estas fuentes de ácidos grasos en su alimentación. Por lo anterior, cuando se desarrolla el cultivo comercial de peces en sistemas de producción, se debe asegurar que los organismos en producción contengan los nutrientes requeridos para satisfacer sus requerimientos.

Las fuentes de ácidos grasos (aceite de pescado y harina de pescado), al ser ingredientes costosos y de alta demanda en el mercado, surge la necesidad de utilizar fuentes alternativas (Turchini *et al.*, 2009). Es así que existe una gran cantidad de trabajos en donde se ha estudiado su reemplazo por aceites vegetales midiendo su desempeño y calidad dentro de un sinnúmero de especies acuáticas (Drew *et al.*, 2007; Fountoulaki *et al.*, 2009; Geurden *et al.*, 2009; Mourente *et al.*, 2005; Nasopoulou y Zabetakis., 2012; Pratoomyot *et al.*, 2008; Tocher *et al.*, 1997).

Dentro de los ingredientes alternativos, están los subproductos animales. Éstos han probado contener un perfil de aminoácidos relativamente semejante a la harina de pescado en comparación con las harinas vegetales (NRC, 2011) en donde se puede mencionar la harina de

subproducto de ave, cerdo, carne, hueso y de pluma. Si bien éstos han dado buenos resultados, a menudo presentan un alto contenido de lípidos, con una cantidad menor de ácidos grasos altamente poliinsaturados (EPA y DHA), así como una baja proporción de los n-3 con relación a los n-6.

Algunos de los estudios reportados de sustitución de harina y aceite de pescado con diversas especies son, Turchini *et al.* (2009), Sustituyeron el aceite de pescado en especies carnívoras de aguas marinas templadas y cálidas, y llegaron a la conclusión que la sustitución de aceite de pescado en las especies marinas carnívoras es un reto mayor en comparación con otras especies que están mejor adaptadas para utilizar los lípidos de la dieta de manera más eficiente como lo son peces de agua dulce.

Se ha establecido que en peces carnívoros de agua dulce como la trucha, la harina de subproductos de ave puede ser utilizada para sustituir parte de la harina de pescado (Bureau *et al.*, 1999). Hay también resultados alentadores en el uso de subproductos de ave y carne en la elaboración de alimentos para camarón y tilapia (Cruz-Suarez *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2009; Hernández *et al.*, 2008). Estas harinas eran consideradas de baja calidad, en particular cuando presentan una variabilidad alta en el contenido de grasa, por lo cual existen referencias en donde no se recomiendan como ingredientes de alimento para peces carnívoros. Sin embargo, esta situación ha ido cambiando conforme el precio de la harina y aceite de pescado se han ido incrementando. Lo anterior ha hecho que se trabaje en la calidad de los

subproductos, con la idea de mantener un estándar de calidad con un mínimo de contenido en grasa (alrededor del 12%). Es así que nuevos estudios han demostrado un aumento considerable en la calidad del ingrediente, aunque todavía no se recomienda para una sustitución total de la harina de pescado en la formulación de dietas (Bureau *et al.*, 2000). Cabe aclarar que esta recomendación deberá estar basada de acuerdo al balanceo en la dieta con otros ingredientes, ya sea buscando el perfil ideal de aminoácidos, o de AG. Por otro lado, cuando no se conocen los requerimientos propios de una especie, resulta difícil sustituir la harina de pescado en altas cantidades, para no dar lugar a un balanceo inadecuado.

Ello se debe a que las harinas de subproductos animales son deficientes en algunos aminoácidos característicos de la harina de pescado. Por otro lado, las especies marinas difieren de las de agua dulce en el requerimiento de una mayor calidad tanto en proteína como lípidos en la dieta, de tal manera que no se utilizan éstos ingredientes en altas proporciones en los peces marinos. El cultivo de salmón es una excepción, ya que se ha reportado hasta una inclusión del 30% o más en la dieta (Tacon *et al.*, 2011). Se considera que una de las limitantes en su inclusión no es tanto el perfil de amino ácidos, ya que éstos pueden ser adicionados, sino el exceso de lípidos porque el balanceo con aceite de pescado se dificulta cuando la materia prima ya contiene cerca del 12 al 15% de lípidos.

En este trabajo se evaluará el efecto de sustitución de la harina de pescado por harina de subproducto de ave sobre el desempeño y el perfil de ácidos grasos en *Totoaba macdonaldi*.

*Totoaba macdonaldi*, es un pez depredador marino, endémico del Alto Golfo de California, que se distribuye en la región occidental del golfo, desde la desembocadura del Río Colorado hasta Mulegé Baja California Sur y por el oriente, hasta la desembocadura del Río fuerte en Sinaloa (Ruíz y Dura, 1980). Estos teleósteos de gran longitud, cerca de los 2 m, llegan a pesar hasta 100 kg (Flanagan y Hendrickson, 1976), lo que hace que este pez sea considerado como la especie más grande de la familia Sciaenidae (Almeida *et al.*, 1991).

## **II. Antecedentes**

La totoaba, *Totoaba macdonaldi*, pez de la familia Sciaenidae que formó parte de una de las pesquerías comerciales y deportivas más importantes en el Alto Golfo de California. La pesca de esta especie inició en 1900, inicialmente comercializada por la explotación de su vejiga natatoria, y años después se comercializó también por su carne. Durante la primera mitad del Siglo XX su pesca fue indiscriminada, alcanzando un máximo en capturas de 2,261 toneladas métricas en el año 1942. Para 1974 a pesar de varios esfuerzos de regulación y conservación la producción disminuyó a 58 toneladas métricas (Flanagan y Hendrickson, 1976). Al siguiente año el

gobierno mexicano declaró una veda indefinida de su captura (Diario Oficial de la Federación, 1975), además de que fue incluida en el Apéndice I de la Convención Internacional del Comercio de Especies Amenazadas (CITES) a partir de 1976. Actualmente se encuentra registrada como especie en peligro de extinción en la Norma Oficial Mexicana, NOM-059-ECOL-2001 (Diario Oficial de la Federación, 2002).

Durante los años noventa, como parte de un programa de repoblación y con autorización de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), la totoaba fue cultivada exitosamente en cautiverio a partir de reproductores silvestres (True et al., 1997).

Se ha reportado que juveniles silvestres de totoaba consumen dietas con niveles altos de proteínas y moderados contenidos de lípidos (Flanagan y Hendrickson, 1976; Rueda- López *et al.*, 2011).

López *et al.* (2006), realizaron una comparación en la composición proximal y perfil de ácidos grasos de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*, en donde mostraron el perfil de ácidos grasos en músculo entre peces de laboratorio y silvestres, observando diferencias significativas derivadas del aporte nutricional de la dieta comercial utilizada.

Villareal (2011), determinó el efecto de la concentración de ácidos grasos altamente insaturados (LC-PUFAs) n-3 en la dieta sobre el crecimiento, supervivencia, eficiencia alimenticia e índice de condición en juveniles de *Totoaba macdonaldi*, marcando la importancia de la presencia de EPA y DHA.

Debido a los pocos estudios sobre los requerimientos nutricionales de *Totoaba macdonaldi*, en este trabajo se consideraron estudios que se han realizado con diversas especies de scianidos como la corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) y el tambor rojo (*Sciaenops ocellatus*).

Serrano *et al.* (1992), obtuvieron los valores más altos de crecimiento y eficiencia en los organismos de tambor rojo (*Sciaenops ocellatus*) alimentados con dietas que contenían 40 y 45% de proteína y 10% de lípidos.

Por otro lado Guo *et al.* (2007), reportaron que al incluir ingredientes de subproductos de origen animal, se puede ahorrar de un 30 hasta un 50 % de harina de pescado.

Dentro de las especies carnívoras de interés en México están la totoaba, el lenguado y el jurel, especies que han sido poco estudiadas y por lo tanto aún no se cuenta con el conocimiento necesario para elaborar dietas comerciales que puedan ser transferidas al sector productivo.

### **III. Hipótesis**

El uso de dietas para juveniles de *Totoaba macdonaldi* con un incremento de harina de subproductos de ave hasta la substitución total de harina de pescado limitará el contenido de LC-PUFAs n-3, lo cual repercutirá en el crecimiento de los organismos y será un indicativo para estimar un nivel óptimo de sustitución.

### **IV. Objetivo general**

Evaluar el efecto de substitución parcial y total en cuatro niveles de harina de pescado por harina de subproducto de ave en el desempeño y perfil de ácidos grasos en el músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

#### **IV.1. Objetivos particulares**

- 1.- Determinar la tasa de crecimiento y sobrevivencia en juveniles de *Totoaba macdonaldi* al ser alimentados con las dietas elaboradas con cuatro niveles de inclusión de harina de subproducto de ave (0, 33, 67,100%).
- 2.- Evaluar el efecto de las dietas sobre el contenido proximal en el músculo de juveniles *Totoaba macdonaldi* al término del experimento.
- 3.- Determinar el efecto del perfil de ácidos grasos presentes en las dietas sobre el músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* al final del experimento.

## V. Materiales y métodos

### V.1. Elaboración de dietas

Se elaboraron cuatro dietas isoproteicas e isolípídicas, con diferentes niveles de inclusión de harina de subproducto de ave (0, 33, 67,100%), para juveniles de *Totoaba macdonaldi*, en el Laboratorio de Formulación de Alimentos y Dietas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) (Cuadro I).

En el Cuadro II se muestran los perfiles de AG's de harina de pescado, harina de subproducto de ave y aceite de pescado: utilizados en la elaboración de las dietas para los juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

Cuadro I. Composición de dietas experimentales formuladas con cuatro niveles de sustitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave, elaboradas para alimentar a juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

<b>INGREDIENTES</b>	<b>0 *HA</b>	<b>33 *HA</b>	<b>67 *HA</b>	<b>100 *HA</b>
<b>Harina de ave</b>	-	22.5	45.0	67.2
<b>Harina de pescado</b>	65.2	43.3	21.5	-
<b>Harina de maíz</b>	5.5	5.5	5.5	5.5
<b>Aceite de pescado</b>	2.9	1.9	0.9	-
<b>Maizena</b>	16.7	16.9	17.6	17.9
<b>Gelatina</b>	6.0	6.0	6.0	6.0
<b>Rovimix**</b>	3.0	3.0	3.0	3.0
<b>Stay C</b>	0.4	0.4	0.4	0.4
<b>Benzoato de sodio</b>	0.2	0.2	0.2	0.2
<b>Cloruro de colina</b>	0.1	0.1	0.1	0.1
<b>Total</b>	100	100	100	100

\*HA= Harina de subproducto de ave

\*\* Rovimix, mezcla de vitaminas y minerales proporcionados por DSM, México.

Cuadro II. Perfil de AG's de las harinas de pescado (HP), Harina de subproducto de ave (HA) y Aceite de pescado (AP). Las cantidades están reportadas como g de AG/100g de contenido de lípidos.

<b>A.G's</b>	<b>HP60</b>	<b>APG</b>	<b>HA</b>
<b>12:0</b>	nd	nd	2.41
<b>14:0</b>	5.47	121.56	1.31
<b>14:1n9</b>	0.32	nd	nd
<b>15:0</b>	2.39	nd	nd
<b>16:0</b>	21.65	207.36	35.26
<b>16:1n7</b>	8.47	98.87	8.75
<b>16:2n4</b>	1.28	nd	nd
<b>17:0</b>	1.83	18.50	nd
<b>17:1n7</b>	0.74	33.83	nd
<b>18:0</b>	5.74	39.61	12.37
<b>18:1n9</b>	13.68	130.37	48.17
<b>18:2n6</b>	1.71	nd	31.62
<b>18:3n3</b>	0.75	nd	2.95
<b>18:4n3</b>	nd	20.07	nd
<b>20:1n9</b>	3.41	nd	nd
<b>20:2n6</b>	nd	nd	0.61
<b>20:4n6</b>	1.16	nd	4.17
<b>20:5n3</b>	4.44	177.12	0.83
<b>24:0</b>	1.49	36.38	0.67
<b>22:6n3</b>	5.46	116.34	0.89
<b>∑ Saturados</b>	38.58	423.41	52.02
<b>∑ Insaturados</b>	41.42	576.59	97.98
<b>∑ MUFAs</b>	26.62	263.06	56.92
<b>∑ PUFAs</b>	14.80	333.60	41.06
<b>EPA/DHA</b>	0.81	1.52	0.93
<b>∑ n3/n6</b>	3.70		0.13

nd=no determinado  
NI= No Identificados

## V.2. Procedimiento experimental

Los juveniles de *Totoaba macdonaldi* fueron obtenidos a través de un convenio de colaboración entre el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y la Unidad de Biotecnología de Piscicultura (UBP) de la Facultad de Ciencias Marinas (FCM). Este convenio consistió en la eclosión del huevo fertilizado y el desarrollo de los juveniles en el laboratorio del Dr. Juan Pablo Lazo en CICESE. Durante el mes de agosto de 2010, se realizó el experimento antes mencionado como parte de la tesis doctoral del M. en C. Daniel Badillo Zapata, "Uso de isótopos estables para medir la asimilación proteica de alimentos formulados en peces marinos". Dentro de dicho experimento, como parte adicional, se realizó este trabajo para valorar el efecto en los ácidos grasos.

Durante el experimento se utilizaron 300 juveniles de totoaba ( $2.7 \pm 0.0\text{g}$ ) los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 12 estanques (25 peces por estanque) correspondiente a cuatro tratamientos con tres repeticiones cada uno. Durante la primera semana de experimentación, se presentó un problema de mortalidad en peces del tratamiento 100HA, los cuales fueron repuestos por 75 peces que a pesar de ser del mismo lote presentaron una mayor talla ( $6.4 \pm 0.2\text{g}$ ). Los juveniles se mantuvieron en un sistema de recirculación con agua de mar (33‰). El sistema consistió en doce estanques circulares de fibra de vidrio de 350-L de capacidad cada uno, conectados a un biofiltro de 150 L "PolyGeyser® Filter" (Pneumatic Drop Bead Filter model

PG7 International Filter Solutions, TX, USA). Los parámetros fisicoquímicos del agua (amonio, nitratos, nitritos, pH y alcalinidad) se midieron mediante un “kit master” para agua de mar (Aquarium Pharmaceutical, Inc. Canada). El biofiltro se encontraba conectado a un sistema reservorio de agua de 300 L de capacidad el cual mantuvo el agua a temperatura constante ( $26.0 \pm 1.0$  °C) con una bomba intercambiadora de calor de 1HP.

La alimentación de los organismos se realizó a saciedad aparente, es decir, el alimento se agregó de manera suficiente hasta que dejaron de alimentarse. Esto representó alrededor de un 3% de su peso corporal al día, repartido en tres raciones (08:00, 13:00 y 19:00 h) durante 86 días de experimentación y con un foto-período 12:12 h luz/obscuridad.

Los siguientes índices fueron calculados para evaluar el crecimiento de los peces:

$$\% \text{ de ganancia en peso} = [(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{peso inicial}] \times 100$$

Tasa de crecimiento específica (TCE)

$$\text{TCE} = [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{tiempo (días)}] \times 100$$

Al inicio del experimento fueron colectados seis peces del total de los organismos y al final del experimento tres peces por unidad experimental. Todas las muestras fueron congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis.

### **V.3. Análisis proximales**

Se determinó la composición proximal de las dietas y en músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología del IIO de la UABC.

Los análisis de lípidos, proteínas, humedad y ceniza de cada una de las muestras obtenidas fueron realizados siguiendo el protocolo estándar propuesto por la AOAC (1990) por triplicado. El nitrógeno total (N) se determinó por el método micro-Kjeldhal y la proteína cruda total, se cálculo mediante el %N multiplicado por el factor de 6.25. La humedad se determinó por gravimetría después de secar las muestras a 60 °C por un periodo de 24 h. El contenido de cenizas se estimó al calcinar la muestra a 550 °C por un periodo de 4 h. La grasa cruda se determinó por extracción con el método Soxhlet con éter de petróleo como disolvente durante 4 h.

### **V.4. Extracción de lípidos totales y análisis de ácidos grasos**

La extracción de lípidos se realizó siguiendo la técnica modificada de Folch *et al.* (1957), con sustitución del cloroformo por diclorometano. Ésta se realizó de la siguiente manera: en un vial pyrex se pesó ~1g de muestra de alimento o de músculo, se agregó 1mL de agua destilada sólo en el caso del alimento, 2 mL de solución de extracción (diclorometano- metanol 2:1 ), 50 µL de BHT al 1%. La mezcla se agitó en vortex y las muestras se dejaron reposar durante 20 h a 4°C, tapadas con papel aluminio para evitar la luz. Después de

este tiempo la mezcla se agitó nuevamente y se centrifugó por 10 min a 4400 rpm a 4°C. Con una pipeta Pasteur se pasó el sobrenadante a otro vial previamente pesado. El volumen del extracto fue medido en una probeta, se agregaron 0.25 volúmenes de NaCl al 0.75% y se agitó en vortex, se recuperó la fase diclorometanólica y se pasó a un vial ámbar previamente pesado (peso seco constante) para finalmente, evaporar el solvente con nitrógeno. Se pesó el vial conteniendo los lípidos y se calculó el contenido de lípidos totales por diferencia del peso inicial.

El proceso de saponificación se llevó a cabo de acuerdo a la metodología de Christie (1993), que consistió en agregar 100 µL de una solución de 0.3N de KOH metanólica al 90% a la muestra de extracción para después incubarla en baño maría a 60°C por 30 min. Se agregaron 300 µL de agua destilada y 250 µL de hexano, se agitó y se centrifugó por 5 min a 4400 rpm a 4°C. Se descartó la capa superior y se agregaron 300 µL de agua destilada. La mezcla se acidificó con una gota de HCl 6N, se añadieron 250 µL de hexano, se extrajo la capa superior y se evaporó con nitrógeno. La metilación se llevó a cabo agregando 500 µL de trifluoruro de boro (BF<sub>3</sub>) al 14% en metanol (Sigma B1252), posteriormente las muestras se pusieron en baño maría a 60°C por 15 min. Después se agregó 300 µL agua destilada y 200 µL hexano, se descartó la fase de agua y se dejó la fase con hexano que contiene los metil-ésteres de ácidos grasos, se secaron con nitrógeno y se almacenaron a -20 °C para su posterior análisis en el cromatógrafo de gases. Los metil-ésteres de ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de

gases capilar (Agilent GC6850) con una columna (DB-23, Model No. Agilent 122-2362E, 60 m x 250  $\mu\text{m}$  x 25.0  $\mu\text{m}$  nominal). El gas transportador fue nitrógeno a un flujo de 0.7 mL  $\text{min}^{-1}$ , se utilizó 1  $\mu\text{L}$  de volumen de inyección, con un Split de 50:1. La temperatura se mantuvo a 130°C por 1 min, después se elevó a 170°C con una tasa de incremento de 6.5 °C  $\text{min}^{-1}$ . Posteriormente se volvió a aumentar la temperatura a 215 °C con una tasa de incremento de 2.75 °C  $\text{min}^{-1}$  y se mantuvo por 12 min más. Finalmente se aumentó la temperatura a 230 °C con una tasa de incremento de 40°C  $\text{min}^{-1}$ . Los ácidos grasos se identificaron y cuantificaron por comparación con estándares de aceites de pescado y FAME mix 37 (Supelco). Los cálculos se efectuaron mediante el software “*HP Chemstation Data Analysis Application Model G1701EA E.02.00.493*” para Windows. Con el fin de cuantificar la cantidad de ácidos grasos se consideró el porcentaje total de ácidos grasos en los lípidos totales y éstos a su vez calculados de acuerdo al contenido total de lípidos en la muestra.

## **V.5. Análisis estadístico**

Se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencias entre los tratamientos en cada una de las evaluaciones. Se empleó la prueba de rangos múltiples de Tukey para ponderar las diferencias entre los promedios. Se trabajó con un 95% de confianza para determinar diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) (Zar, 1974). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa SigmaStat 3.5.

## **VI. Resultados**

### **VI.1. Dietas experimentales**

#### **VI.1.2. Análisis proximales de las dietas**

Las dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de harina de subproducto de ave (0, 33, 67,100 %) reportadas en peso seco, no mostraron diferencias significativas siendo isoproteicas (54.1-54.7%) e isolipídicas (7.9-8.1%) (Cuadro III). El contenido de cenizas mostró diferencias con valores entre 13.9 y 9.3%. Las muestras se hicieron por triplicado tomando muestras del mismo y único lote por tratamiento para toda la experimentación.

#### **VI.1.3. Composición de ácidos grasos en dietas**

El perfil de ácidos grasos (AG's), de los cuatro tratamientos se muestra en el cuadro IV, mostrando un incremento gradual ( $\text{mg g}^{-1}$ ) en el contenido del ácido graso oleico (18:1n9) de 10.72 a 25.91; linoleico (18:2n6) de 4.20 a 17.45. El ácido linolénico (18:3n3) presentó una disminución de 0.88 a 0.07. El ácido araquidónico (20:4n6) mostró un incremento gradual de 2.07 a 3.16, el EPA (20:5n3) disminuyó gradualmente de 7.54 a 0.69, al igual que el DHA (22:6n3) de 14.07 a 0.94. Es así que la relación n3/n6 se vio afectada con una proporcionalidad de 7.57 a 0.39 disminuyendo gradualmente del tratamiento

con harina de pescado a la que contenía exclusivamente harina de subproducto de ave.

Cuadro III. Composición proximal de las dietas experimentales con cuatro niveles de sustitución de la harina de pescado por harina de subproducto de ave, para juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

Dieta	Tratamientos			
	*0 HA	*33 HA	*67 HA	*100 HA
<b>**Lípidos</b>	7.9	8.0	8.1	8.0
<b>**Proteínas</b>	54.1	54.7	54.7	54.1
<b>**Cenizas</b>	13.9	12.0	10.0	9.3
<b>***ELN</b>	24.1	25.7	27.1	28.6

\*HA= Harina de subproducto de ave

\*\* Proximales en base a peso seco

\*\*\*ELN = 100 - (% proteína cruda + % grasa cruda + % cenizas)

Cuadro IV. Perfil de AG's en dietas con cuatro niveles de sustitución de la harina de pescado por harina de subproducto de ave para *Totoaba macdonaldi*. Valores en  $mg\ g^{-1}$  de dieta.

<b>AG's</b>	<b>0 *HA</b>	<b>33 *HA</b>	<b>67 *HA</b>	<b>100 *HA</b>
<b>12:0</b>	nd	1.08	0.60	4.00
<b>14:0</b>	4.03	2.86	2.46	0.81
<b>14:1n9</b>	0.09	nd	0.09	0.14
<b>15:0</b>	0.52	0.38	0.31	0.13
<b>16:0</b>	20.32	20.04	21.86	17.82
<b>16:1n7</b>	3.89	4.16	4.43	4.64
<b>17:0</b>	0.96	0.21	0.34	0.20
<b>17:1n7</b>	0.56	0.46	0.57	0.11
<b>18:0</b>	5.31	6.45	8.29	6.53
<b>C18:1n9</b>	10.72	14.88	19.61	25.91
<b>18:2n6</b>	4.20	8.56	10.47	17.47
<b>18:3n6</b>	0.67	0.74	0.68	0.78
<b>18:3n3</b>	0.88	0.73	0.43	0.07
<b>20:1n9</b>	0.87	0.57	0.84	0.35
<b>20:2n6</b>	0.28	0.27	0.31	0.44
<b>20:4n6</b>	2.07	2.74	2.22	3.16
<b>20:3n3</b>	0.35	nd	nd	nd
<b>20:5n3</b>	7.54	6.03	3.00	0.69
<b>23:0</b>	0.23	0.31	0.46	0.74
<b>24:0</b>	0.97	0.74	0.56	0.00
<b>22:6n3</b>	14.07	9.87	4.58	0.94
<b>∑ Saturados</b>	32.33	32.08	34.88	30.22
<b>∑ Insaturados</b>	46.21	49.02	47.23	54.69
<b>∑ MUFAs</b>	16.14	20.07	25.54	31.14
<b>∑ PUFAs</b>	30.07	28.95	21.69	23.55
<b>EPA/DHA</b>	0.54	0.61	0.66	0.74
<b>∑ n3/n6</b>	7.57	4.44	2.50	0.39

\*HA= Harina de subproducto de ave  
nd= no determinado

## VI.2. Índices biológicos

Después de ser alimentados los juveniles de *Totoaba macdonaldi* durante 86 días con los diferentes tratamientos (Cuadro V), se obtuvo un peso final significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) así como el porcentaje de incremento en peso con un valor mayor para el tratamiento 67HA ( $53.2 \pm 1.8$  g, 2002.3%, respectivamente) y menor para el 100HA ( $20.7 \pm 3.4$  g y 323.9%, respectivamente). Para la tasa de crecimiento específico se obtuvieron valores distintos desde 1.6 para en tratamiento 100HA hasta 3.5 para 67HA. La sobrevivencia observada fue de casi el 90% (67 HA) disminuyendo drásticamente para el 100HA con el 52.4%.

Cuadro V. Índices biológicos en juveniles de *Totoaba macdonaldi* después de haber sido alimentados durante 86 días, con dietas conteniendo cuatro niveles de sustitución de harina de pescado por subproductos de ave.

Índices biológicos	Tratamientos			
	*0 HA	*33 HA	*67 HA	*100 HA
Peso inicial (g org <sup>-1</sup> )	2.7±0.2 <sup>a</sup>	2.7±0.0 <sup>ab</sup>	2.7±0.0 <sup>ab</sup>	6.4±0.2 <sup>b</sup>
Peso final (g org <sup>-1</sup> )	26.0±1.9 <sup>c</sup>	34.0±6.0 <sup>b</sup>	53.2±1.8 <sup>a</sup>	20.7±3.4 <sup>d</sup>
Incremento total en peso (%)	968.6±69.8 <sup>c</sup>	1274.4±232.2 <sup>b</sup>	2002.3±72.6 <sup>a</sup>	324.2±57.2 <sup>d</sup>
Incremento diario (g día <sup>-1</sup> org <sup>-1</sup> )	0.3±0.0 <sup>bc</sup>	0.4±0.1 <sup>b</sup>	0.6±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.0 <sup>c</sup>
TCE (% día <sup>-1</sup> ) **	2.6±0.1 <sup>b</sup>	2.9±0.2 <sup>b</sup>	3.5±0.0 <sup>a</sup>	1.6±0.5 <sup>c</sup>
Sobrevivencia (%)	76.0±10.6 <sup>a</sup>	78.7±10.1 <sup>a</sup>	89.3±2.39 <sup>a</sup>	52.4±3.8 <sup>b</sup>

\* Harina de subproducto de ave

\*\* TCE = Tasa de Crecimiento Específica

± Desviación estándar

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

N.S.: no significativo ( $P > 0.05$ )

### VI.3. Análisis proximales en músculo de totoaba

La composición proximal del músculo de los organismos colectados al inicio y final de la experimentación no mostraron diferencias significativas en lípidos y proteínas (1.3 al inicio y al final valores entre 2.1 a 2.3% en lípidos, y de 81.1 a 82.7 % en proteínas), por otro lado en cenizas si se mostraron diferencias significativas con relación al inicio de la experimentación con un valor de 8.9% al inicio a valores entre 4.8 a 6.1% entre los distintos tratamientos experimentales (Cuadro VI).

Cuadro VI. Composición proximal de músculo en juveniles de *Totoaba macdonaldi* después de 86 días de alimentación.

% peso seco	Tratamientos				
	inicial	*0 HA	*33 HA	*67 HA	*100 HA
Lípidos	1.3±0.2	2.2±0.4	2.2±0.90	2.1±0.1	2.3±0.7
Proteínas	82.7±0.6	81.1±1.3	82.6±0.7	81.3±1.1	82.2±0.2
Cenizas	8.9±0.4 <sup>a</sup>	4.8±0.1 <sup>c</sup>	5.6±0.2 <sup>b</sup>	6.1±0.1 <sup>b</sup>	5.9±0.3 <sup>b</sup>
**ELN	7.0	11.9	9.6	10.5	9.6

\* Harina de subproducto de ave

\*\*ELN = 100 - (% proteína cruda + % grasa cruda + % cenizas)

± Desviación estándar

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes son significativamente diferentes (P<0.05). N.S.: no significativo (P>0.05)

#### VI.4. Composición de ácidos grasos en músculo de totoaba

En el cuadro VII se muestra el perfil de ácidos grasos contenidos en el músculo de totoaba ( $\text{mg g}^{-1}$  de tejido) de los distintos tratamientos. Estos datos corresponden a su contenido con relación al total del músculo, en donde se aprecian que no hay diferencia entre los ácidos grasos saturados a excepción del ácido esteárico, mientras que en los monosaturados como el oleico y poliinsaturados se muestran diferencias, en donde éstos cambian proporcionalmente con la inclusión de la HA. En el caso de los PUFAs la disminución da lugar al decremento en la razón EPA/DHA que va de 0.7 a 0.4 (para 0HA y 100HA, respectivamente). Por ende, la relación n3/n6 se vio afectada con valores de 4.7 a 0.3 (para 0HA y 100HA, respectivamente).

La concentración del ácido esteárico (18:0) mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). Los juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con el tratamiento 33HA ( $2.1 \pm 0.1$ ) presentaron una acumulación significativamente mayor los alimentados con los tratamientos 67HA y 0HA ( $1.5 \pm 0.2$  y  $1.7 \pm 0.1$ , respectivamente).

Para el ácido oleico (18:1n9) si se encontraron diferencias significativas, con la menor concentración en los organismos alimentados con el tratamiento 0HA ( $2.9 \pm 0.4$ ) la que se incrementó significativamente de manera gradual ( $P < 0.05$ ) conforme se aumentaba el nivel de HA.

El ácido linoleico (18:2n6) resultó también con diferencias significativas entre tratamientos donde se observó un incremento gradual con la inclusión de subproducto de ave.

El contenido del ácido linolénico (18:3n6) mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), incrementándose gradualmente conforme aumentó la inclusión de HA. La menor concentración se presentó en los organismos alimentados con el tratamiento 0HA ( $0.04 \pm 0.01$ ) y la mayor concentración en los organismos alimentados con el tratamiento 100HA ( $0.08 \pm 0.00$ ).

El ácido araquidónico (20:4n6), no mostró diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores entre 0.74 en los organismos alimentados con el tratamiento 67HA y 1.02 en los organismos alimentados con el tratamiento 100HA.

El ácido eicosapentanoico (20:5n3) (EPA) mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) reduciendo su contenido conforme se incrementó HA. Los organismos alimentados con el tratamiento 0HA ( $2.9 \pm 0.1$ ) presentaron una acumulación significativamente mayor a los alimentados con los otros tratamientos. De igual forma, el ácido docosahexaenoico (22:6n3; DHA) mostró diferencias significativas donde los organismos alimentados con el tratamiento 100HA presentaron la menor acumulación ( $0.9 \pm 0.2$ ) y los organismos alimentados con el tratamiento 0HA los que acumularon la mayor cantidad ( $4.5 \pm 0.8$ ).

Cuadro VII. Perfil de AG's en músculo en juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas conteniendo cuatro niveles de sustitución de harina de pescado por harina de subproductos de ave. Valores en mg g<sup>-1</sup> de músculo.

AG's	Tratamientos			
	*0 HA	*33 HA	*67 HA	*100 HA
<b>14:0</b>	0.47±0.08	0.21±0.06	0.34±0.22	0.14±0.10
<b>15:0</b>	0.08±0.01	0.05±0.01	0.05±0.02	0.04±0.00
<b>16:0</b>	3.92±0.12	4.09±0.15	3.85±0.37	3.60±0.53
<b>16:1n7</b>	1.10±0.17	0.79±0.00	1.20±0.20	1.07±0.14
<b>17:0</b>	0.10±0.01	0.07±0.03	0.05±0.01	0.04±0.00
<b>18:0</b>	1.66±0.14 <sup>ab</sup>	2.14±0.11 <sup>c</sup>	1.51±0.15 <sup>a</sup>	1.95±0.08 <sup>bc</sup>
<b>18:1n9</b>	2.86±0.35 <sup>a</sup>	4.71±1.14 <sup>b</sup>	4.96±0.10 <sup>bc</sup>	6.49±0.01 <sup>c</sup>
<b>18:1n7</b>	0.62±0.21	0.59±0.06	0.51±0.00	0.51±0.04
<b>18:2n6</b>	0.89±0.06 <sup>a</sup>	3.10±1.48 <sup>b</sup>	4.05±0.39 <sup>bc</sup>	5.66±0.23 <sup>c</sup>
<b>18:3n6</b>	0.04±0.01 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>ab</sup>	0.06±0.01 <sup>ab</sup>	0.08±0.00 <sup>b</sup>
<b>18:3n3</b>	0.15±0.02	0.12±0.01	0.17±0.05	0.15±0.02
<b>18:4n3</b>	0.18±0.04	0.07±0.04	0.07±0.02	0.06±0.00
<b>20:1n9</b>	0.15±0.02	0.15±0.01	0.13±0.05	0.34±0.28
<b>20:4n6</b>	0.84±0.11	1.00±0.01	0.74±0.06	1.02±0.16
<b>20:5n3</b>	2.89±0.14 <sup>c</sup>	1.48±0.73 <sup>b</sup>	0.91±0.05 <sup>ab</sup>	0.36±0.16 <sup>a</sup>
<b>22:5n3</b>	0.55±0.08 <sup>b</sup>	0.40±0.14 <sup>ab</sup>	0.22±0.04 <sup>a</sup>	0.17±0.12 <sup>a</sup>
<b>22:6n3</b>	4.47±0.80 <sup>b</sup>	3.30±1.47 <sup>ab</sup>	1.84±0.18 <sup>a</sup>	0.94±0.22 <sup>a</sup>
<b>24:1n9</b>	0.13±0.03	0.11±0.01	0.09±0.04	0.16±0.03
<b>Saturados</b>	6.24	6.55	5.81	5.77
<b>Σ Insaturados</b>	14.87	15.88	14.95	17.00
<b>Σ MUFAs</b>	4.86	6.35	6.89	8.56
<b>Σ PUFAs</b>	10.01	9.53	8.06	8.43
<b>EPA/DHA</b>	0.65	0.45	0.49	0.38
<b>Σ n3/n6</b>	4.66	1.29	0.66	0.25

\* Harina de subproducto de ave

± Desviación estándar

Los valores de la misma fila con superíndices diferentes son significativamente diferentes (P<0.05). N.S.: no significativo (P>0.05)

## VII. Discusión

Los juveniles de *Totoaba macdonaldi* presentaron un crecimiento similar al máximo reportado en un experimento anterior (Rueda-López *et al.*, 2011) y equivalente a la dieta control del presente experimento. Sin embargo, al incrementar la sustitución de harina de ave en dietas isoproteicas e isoenergéticas, la tasa de crecimiento se incrementó dando lugar a diferencias significativas. El mayor crecimiento se reportó en el 67HA siendo el doble del registrado en la dieta control. Rueda-López *et al.* (2011) realizaron un diseño con dos factores en seis dietas con tres niveles de proteínas y dos de lípidos para alimentar a juveniles de totoaba, en donde se mostró que el mejor crecimiento ( $2.5\% \text{ dia}^{-1}$ ) se observó con la dieta que contenía 52% de proteína y 8% de lípidos, y una relación de proteína/energía (P/E) de 25.7 mg protein:KJ-1, con una composición con 2.0% menos de la proteína utilizada en el presente trabajo (52 vs 54.0). La dieta control correspondiente al tratamiento OHA fue formulada con los mismos ingredientes reportados por Rueda-López *et al.* (2011), mientras que los otros tratamientos del presente trabajo presentan la sustitución de la harina de pescado por harina de ave guardando la misma relación de P/E entre los distintos tratamientos experimentales. El hecho de que el tratamiento 67HA haya incrementado al doble de lo reportado en OHA se debe a la incorporación misma de la harina de ave manteniendo el óptimo de proteína y lípidos. Este también fue

reportado por Parés-Sierra *et al.* (2012), en donde la combinación de diversos ingredientes resultó en un mejor crecimiento.

El propósito de este trabajo al sustituir en cuatro niveles (de 0 a 100) la harina de pescado por harina de subproducto de ave era estimar el nivel de máxima sustitución posible de una harina por otra, esto con el conocimiento de que la harina de ave carece de importantes ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFAS) y la sustitución total sin un enriquecimiento extra de aceite de pescado traería consecuencias en el perfil de los ácidos grasos una baja cantidad DHA y EPA, y por ende un posible efecto negativo en el crecimiento en cuanto el nivel de éstos llegara a ser subóptimo. Es así que la combinación de 67 %harina de pescado 33% de harina de ave resultó en un mejor crecimiento con un nivel de nutriente apropiado para su crecimiento.

Parte de este trabajo consistió en comparar los perfiles de aminoácidos de las dietas aquí presentadas y mostrado en el anexo I, en donde se ve que en los 4 tratamientos no hay marcadas diferencias entre ellos. Quizás el contenido de lisina presente una ligera variación que va de 4.4 hasta 3.5, mientras que la metionina de 1.2 a 1.0. Lo anterior corresponde a lo indicado por diversos autores de que la harina de subproducto de ave puede contener una alta calidad proteica con un perfil de aminoácidos comparable a lo encontrado en una gran variedad de harinas de pescado (NRC, 2011).

La clara diferencia de resultados obtenidos entre el tratamiento 67HA y 100HA hace pensar que no se debe al contenido de aminoácidos, sino más

bien al contenido en el perfil de ácidos grasos. La tasa específica de crecimiento del tratamiento 100HA disminuyó en del 50% de lo obtenido en 67HA, y a diferencia del 0AH, se observó una elevada tasa de mortalidad. El hecho de que la combinación del 67HA haya dado mejor resultado, seguramente se debe a una mayor cantidad de AG monosturados (o MUFAs) con un mínimo con lo requerido de PUFAs. El hecho de que los MUFAs contenidos en el tejido de la totoaba como el oleico estén en una concentración menor a lo contenido en las dietas significa que éstos hayan sido utilizados eficientemente como fuente energética, lo cual coincide con Bowyer *et al.* (2012) cuya observación lleva a pensar que el uso eficiente de los MUFAs de lugar a un ahorro de proteína. Por otro lado, esta dieta 67HA presentó una relación de n-3/n-6 de 7.57, a diferencia del 0.39 presentada en la dieta 100HA. Esto confirma la idea de que la cantidad mínima de EPA y DHA es necesaria para el crecimiento óptimo sea lo presentado en el tratamiento 67HA con 3.00 mg g<sup>-1</sup> y 4.58 mg g<sup>-1</sup> de EPA y DHA, respectivamente, y equivalente a una relación de 1:1.5 (EPA/DHA). Niveles menores a éstos en DHA y EPA conllevan a una reducción en el crecimiento y a la mortalidad.

Bureau *et al.* (2000) establecen que en dietas para trucha no se debe reemplazar la totalidad de la HP conteniendo un mínimo del 30% de los ingredientes debido a una baja en la digestibilidad proteica que repercute en la eficiencia de la conversión proteica. En este trabajo se confirma que no se debe a la digestibilidad si no a la presencia de los LC-PUFAs. Quizás en años

anteriores la calidad de la harina de subproductos de aves no era igual y éste problema esté resuelto así como lo establece Sealey et al. (2012).

Existen otros trabajos en donde se demuestra el uso eficiente de las harinas de subproducto de ave, pero con un aporte extra de aceite de pescado para balancearlas al nivel de energía. De tal manera que el contenido de los LC-PUFAs no lleguen a ser restrictivos con la consecuencia de una reducción de crecimiento y mortalidad.

## **VIII. Conclusiones**

La combinación de la harina de subproducto de ave y de harina de pescado resulta en un mejor crecimiento que cualquiera de ellas sola.

La harina de subproducto de ave combinada en un 67 y 33% de la harina de pescado maximiza el crecimiento obteniendo el doble del observado sin harina de subproducto de ave.

La menor cantidad acumulada del AG oleico en tejido en comparación a lo presentado en las dietas muestra un uso eficiente de éste ácido graso como fuente de energía.

La cantidad mínima requerida de EPA y DHA para maximizar el crecimiento en totoaba es de  $3.00 \text{ mg g}^{-1}$  y  $4.58 \text{ mg g}^{-1}$  respectivamente, equivalente a una relación de 1:1.5.

## IX. Literatura citada

Almeida M., G. Morales y M. Román, 1991, Aspectos sobre la aclimatación de juveniles de totoaba, *Totoaba macdonaldi*, (Gilbert) en condiciones de cautiverio. *Ecológica*, 2:7-12pp.

AOAC, 1990, Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.

Badillo-Zapata, D., 2009, Utilización de fuentes alternas de aceites vegetales en la formulación de alimento balanceado para el lenguado de California (*Paralichthys californicus*). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Marinas Universidad Autónoma de Baja California. 60pp.

Bowyer, J.N., J.Q. Qin., R.P. Smullen y D.A.J Stone, 2012, Replecement of fish oil by poultry oil and Canola oil yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) at optimal and suboptimal temperatures. *Aquaculture* 356-357; 211-222.

Bureau, D.P., A.M. Harris y C.Y. Cho, 1999, Apparent digestibility of rendred animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 180:345-358.

Bureau, D.P., A.M. Harris, D.J. Bevab, L.A. Simmons, P.A. Azevedo, y C.Y. Cho, 2000. Feather meals and meat and bone meals from different

origins as protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture* 181:281-291

Christie, W.C., 1993, Preparation of lipid extracts from tissues. En:W.W. Christie (ed.), *Advances in Lipid Methodology*, Second Edition, Ed., Oily Press, Dundee, Scotland, 195-213 pp.

Cruz-Suárez, L.E., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M. Scholz, U. y D. Ricque-Marie, 2007, Replacement of Fish Meal with Poultry By-Product Meal (Pet Food Grade) in Practical Diets for *Litopenaeus vannamei*, and Digestibility of the Tested Ingredients and Diets. *Aquaculture* 272 (2007) 466-476.

Devlin, TM, 2011, *Textbook of Biochemistry: with clinical correlations*. 7<sup>th</sup>ed. Ed John Wiley y Sons, Inc. USA. 1216 pp.

Diario Oficial de la Federación, 1975, Acuerdo que establece veda total para la Totoaba. 1<sup>ERO.</sup> de agosto de 1975.

Diario Oficial de la Federación, 2002, Segunda sección aprobó la Norma Oficial Mexicana (NOM-050-ECOL-2001) en la cual se encuentra registrada la Totoaba en especie en peligro de extinción. 6 marzo de 2002, 85pp.

Drew, M.D., A.E. Ogunkoya, D.M. Janz y A.G Van Kessel, 2007, Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 267: 260-268.

Flanagan, C.A. y J.R. Hendrickson, 1976, Observations on the commercial fishery and reproductive biology of the Totoaba, *Cynoscion macdonaldi*, in the northern Gulf of California *Fishery Bulletin*, Vol. 74,531-544.

- Folch, J., M. Lee, y G.H. Sloane-Stanley, 1957, A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 22, 477-509.
- Fountoulaki, E., A. Vasilaky, R. Hurtado, K. Grigorakis, I. Karacostas, I. Nengas, G. Rigos, Y. Kotzamanis, B. Venou y M.N. Alexis, 2009, Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata L.*); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture* 289:317-326.
- Geurden, I., F. Jutfelt, R.E. Olsen y K.S. Sundell, 2009, A vegetable oil feeding history affects digestibility and intestinal fatty acid uptake in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Comparative Biochemistry and Physiology, part A.* 152:552-559.
- Guo, J., Y. Wang y D.P. Bureau, 2007, Inclusion of rendered animal ingredients as fishmeal substitutes in practical diets for cuneate, *Nibea miichthioides* (Chu,Lo et Wu). *Aquaculture Nutrition*, 13:81-87.
- Hernández, C., M.A. Olvera- Novoa, K. Aguilar-Vejar, B. González-Rodríguez y I. Abdo de la Parra, 2008, Partial replacement of fish meal by porcine meat meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 277:244-250.
- Hernández C., M.A. Olvera- Novoa, R.W. Hardy, A. Hermosillo, C. Reyes y B. González, 2009, Complete replacement of fish meal by porcine and poultry by-product meals in practical diets for fingerling Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: digestibility and growth performance, *Aquaculture Nutrition*, 1-10.

- López, L.M., E. Durazo, A. Rodríguez-Gómez, C.D. Trae y M.T. Viana, 2006, Perfil de Ácidos Grasos de Juveniles Silvestres y Cultivados de *Totoaba macdonaldi*; Ciencias Marinas, 32 (2):303-309.
- Lovell, R.T., 1992, Fish farming: designing protein sources for tomorrow's World. Biotechnology in the feed industry, Proceedings Alltech's eight annual symposium. T.P. Lyond (ed), 236-252pp.
- Mckee, T. y J.R. Mckee, 2003, Bioquímica, La base molecular de la vida. Tercera edición, editorial Mc Graw Hill, Barcelona España 774pp.
- Montero, D. y M. S. Izquierdo, 2000, Efecto de los lípidos dietéticos en la salud y resistencia al estrés en peces. pp282-297 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Mourente, G., J.R. Dick., J.B. Bell. y D.R. Tocher, 2005, Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and  $\beta$ -oxidation of [ $1-^{14}\text{C}$ ] 18:3n-3 (LNA) and [ $1-^{14}\text{C}$ ] 20:5n3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*), Aquaculture, 248:173-186.
- Nasopoulou, C. y I. Zabetakis., 2012, Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review, LWT-Food Science and Technology, 47:217-224.
- National Research Council (NRC), 2011, Nutrient requirements of fish and shrimp, Editorial National Academics Press, Washington, D.C. USA. 378pp.
- Parés-Sierra G, Durazo E, Ponce M.A, Badillo D, Correa-Reyes G, MT, Viana., 2012. (in press) Partial to total replacement of fishmeal by poultry by-product meal in diets for juvenile rainbow trout

(*Oncorhynchus mykiss*) and their effect on fatty acids from muscle tissue and the time required to retrieve the effect. *Aquacult Res.*

Peters, D., R.R., S. Rodríguez de H, J.L. Hernández R, D.A. Mejías Y, y León N., 2004, Determinación del nivel óptimo de sustitución de la harina de pescado por harina de hidrolizado de plumas en el alimento para tilapia roja, *Oreochromis sp.* *Ciencia*, 12(1) ,13-24.

Pratoomyot, J., E.A. Bendiksen, J.G. Bell y D.R. Tocher, 2008, Comparison of effects of vegetable oils blended with southern hemisphere fish oil and decontaminated northern hemisphere fish oil on growth performance, composition and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*), *Aquaculture*, 280:170-178.

Rueda López, S., J.P. Lazo, G. Correa–Reyes y M.T. Viana, 2011, Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juveniles *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture* 319: 385-390.

Ruíz, M. y F. Dura, 1980, Recursos pesqueros de las costas de México Ed. Limusa, 208 pp.

Sargent, J.R., D.R. Tocher y J.G. Bell, 2002. The lipids. En: Halver, J.E., Hardy, R.E. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, Elsevier Science, San Diego, California, USA, 3rd ed., pp 181-257.

Sealey, W.M. y R.W. Hardy, 2011, Evaluation of 100% Fish Meal Substitution with Chicken Concentration, Protein Poultry By- Product Blend, and Chicken and Egg Concentrate on Growth and Disease Resistance of Juvenile Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*.Vol.42, 46-55 pp.

- Serrano, J.A., G.R. Nematipour y D.M. Gatlin III, 1992, Dietary protein requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbohydrate and lipid, *Aquaculture*, 101:283-291.
- Tacon, A.G.J., M.R. Hasan y M. Metian, 2011, Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans, *Trends and prospects*. FAO, *Aquaculture Technical paper No. 564*. 87 pp.
- Turchini, G.M., B.E. Torstensen y W.K. Ng, 2009, Fish oil replacement in finfish nutrition, *Reviews in Aquaculture*, 1, 10-57.
- Tocher, D.R, J.G. Bell, B.M Farndale y J.R. Sargent, 1997, Effects of dietary  $\gamma$ - linolenic acid rich barrage oil combined with marine fish oils on tissue phospholipid fatty acid composition and production of prostaglandins E and F of the 1-, 2 and 3- series in a marine fish deficient in  $\Delta 5$  fatty acyl desaturase, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 57(2), 125-134.
- Tocher, D.R, E.A. Bendiksen, P.J. Campbell y J.G. Bell., 2008, The role phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish, *Aquaculture*, 280:21-34.
- True, C.D, A.S. Loera y N.C. Castro, 1997, Acquisition of broodstock of *Totoaba macdonaldi*: Field handling, decompression, and prophylaxis of an endangered species. *Prog. Fish- Cult.* 59: 246- 248.
- Villareal- Rodarte, G.E., 2011, Efecto de la concentración de HUFAS n-3 en la dieta sobre el crecimiento, supervivencia, eficiencia alimenticia e índice de condición en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de Maestría. . Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California 62 pp.
- Zar, J. H., 1974, *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 41pp.

Zhoug, Q.C., B.P. Tan, K.S. Mai y J. Liu., 2004., Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Aquaculture 241:441-451.

## X. ANEXO I

<i>Amino acid (% of dry diet)</i>	TREATMENTS			
	0BPM*	33BPM*	67BPM*	100BPM*
<b><i>Esenciales</i></b>				
LYS	4.4	3.9	3.5	3.5
MET	1.2	1.2	0.9	1.0
THR	2.2	2.3	2.1	2.3
TYR	0.7	1.7	1.0	0.9
ARG	2.5	2.2	2.3	2.5
PHE	2.1	2.1	1.9	2.1
HIS	1.0	1.0	0.9	1.1
ILE	2.2	2.1	1.9	2.1
LEU	4.7	4.3	4.1	4.3
VAL	2.7	2.6	2.5	2.6
<b><i>No esenciales</i></b>				
ALA	6.1	5.5	5.3	5.3
ASP	3.6	3.5	4.3	2.9
GLY	6.9	8.0	9.1	8.5
GLU	5.6	5.2	5.4	6.0
SER	1.7	2.6	2.6	2.6
PRO	5.2	5.2	5.5	5.1
TAU	1.2	1.4	1.4	1.3

<sup>a</sup>“Pet food grade” procedente de los Estados Unidos y donada por la “National Renderers Association”

<sup>b</sup>Procedente de “Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A de C.V” de Guadalajara Jalisco, México. (Sardina capturada en México con 70% de proteína).

<sup>c</sup> Mezcla de vitaminas rovimix; Stay-C y mezcla de minerales, generosamente donados por DSM, Guadalajara, México.

<sup>d</sup>ELN = 100 - (% proteína cruda + % grasa cruda + % cenizas)