



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería
en colaboración con la
Facultad de Ciencias Marinas

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería

**Suplementación al alimento de *Totoaba macdonaldi* con dos flavonoides
y/o inulina para conocer su efecto en el rendimiento general del pez,
índices somáticos y actividad de enzimas digestivas.**

TESIS

Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias

Presenta

Lina Natalia González Cobián

Tijuana, Baja California, México, 18 de octubre de 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería
en colaboración con la
Facultad de Ciencias Marinas

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería

Suplementación al alimento de *Totoaba macdonaldi* con dos flavonoides y/o inulina para conocer su efecto en el rendimiento general del pez, índices somáticos y actividad de enzimas digestivas.

TESIS

Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias

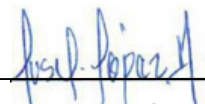
Presenta

Lina Natalia González Cobián



Dra. Rocío Alejandra Chávez Santoscoy

Directora de tesis



Dra. Lus Mercedes López Acuña

Co-Directora de tesis



Dra. Patricia Lilián Alejandra Muñoz Muñoz

Sinodal



Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez

Sinodal



Dr. Mario Alberto Galaviz Espinosa

Sinodal

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

Folio No. 313

Tijuana, B.C., a 17 de septiembre del 2021

C. Lina Natalia González Cobián
Pasante de: Maestría en Ciencias
Presente.-

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la

Opción: TESIS

Es propuesto, por los C. Dra. Rocio Alejandra Chávez Santoscay y

Dra. Lus Mercedes López Acuña

Quienes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente, referido al tema: "Suplementación al alimento de *Totoaba macdonaldi* con dos flavonoides y/o inulina para conocer su efecto en el rendimiento general del pez, índices somáticos y actividad de enzimas digestivas"

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

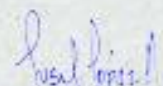
- I. INTRODUCCIÓN
- II. ANTECEDENTES
- III. METODOLOGÍA
- IV. RESULTADOS
- V. CONCLUSIONES Y DISCUSIONES
- VII. BIBLIOGRAFÍA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICA E INGENIERÍA
CAMPUS TIJUANA


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Sub-Directora


Dra. Rocio Alejandra Chávez Santoscay
Directora de Tesis


Dra. Lus Mercedes López Acuña
Co-Directora de Tesis


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director Provisional

Dedicatorias

A mis padres, que siempre han velado por mi futuro y mi felicidad, por todos los sacrificios que han hecho por mí y por mis hermanos, por guiarme y reforzar en mí los valores que hoy me hacen ser quien soy. Sin ustedes esto no tendría sentido. Mi amor eterno para ustedes.

A mi hermana Carolina y mi hermanito Sebastián, que completan mi vida y la llenan de alegría, es por ustedes que lucho por ser mejor a diario.

Agradecimientos

Gracias Dios por permitirme culminar este periodo de mi vida, por darme la ciencia como un regalo y no un obstáculo para entenderte mejor y para intentar hacer algo bueno por este mundo. Cada derrota y cada victoria me acercan más a ti.

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por financiar este proyecto.

Gracias a la Universidad Autónoma de Baja California, mi alma máter, por la oportunidad de realizar mis estudios de licenciatura y maestría en sus instalaciones, no sólo en mi querida Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería que me ha dado grandes cimientos, enseñanzas, amistades y colegas, sino también en la Facultad de Ciencias Marinas donde al momento que puse un pie me abrazaron como una más y me brindaron aprendizajes que llevaré conmigo el resto de mi vida.

A mi estimada directora de tesis, la Dra. Rocío Alejandra Chávez Santoscoy: le estoy sumamente agradecida por todo el tiempo que me ha dedicado desde que me acerqué con usted para realizar la tesis de licenciatura hasta el último minuto de este proyecto. Gracias por nunca perderme la fé, por su guía y su perseverancia, gracias por esos jalones de orejas que mucho bien me hicieron, gracias por siempre impulsarme a seguir adelante y a mantenerme resiliente a pesar de las circunstancias. Espero en el futuro llegar a ser una profesionista de su talla, sé que me falta camino por recorrer y algunas cuestiones por mejorar, pero ojalá algún día pueda hacer que se sienta orgullosa de haber contribuido a la formación de esta alumna tijuanense que siempre la va a recordar.

Dra. Lus Mercedes López Acuña, mi co-directora de tesis, gracias por su infinita paciencia y dedicación durante este proyecto. Gracias por tomarme de la mano en el camino para aprender todo sobre acuicultura y la Totoaba. Esa pasión que tiene por el conocimiento se transmite e inspiran a quienes la rodeamos. No me queda más que reiterarle la estima y la gratitud que le tengo por acompañarme y guiarme este tiempo. Mi admiración para usted.

A mis sinodales la Dra. Lilián y la Dra. Ana. Muchas gracias por su apoyo, por sus observaciones y críticas constructivas. He tenido la oportunidad de ser alumna de ambas en el pasado y agradezco la oportunidad de tener a excelentes profesionistas y seres humanos en mi comité de tesis.

Al Dr. Mario por apoyarme en todo momento durante mi estancia en la Facultad de Ciencias Marinas. Muchas gracias por estar siempre al pendiente, por la paciencia y por resolver todas mis dudas relacionadas con este (para mí) mundo nuevo de la acuicultura.

Profe Fer que siempre estaba de buen humor, gracias por su ayuda tanto en el sistema acuícola como en el laboratorio, la cual fue vital para la realización de este proyecto.

Gracias al laboratorio de nutrición acuícola; Samantha gracias por aguantarme este tiempo, por las trasnochadas, malpasadas y regañadas, porque a pesar de las altas y bajas ahí estuviste, gracias. Gracias Karla por prestarme tu taza todo este tiempo, por los raites cuando no traía carro y por las risas. Gracias Idaly por el tiempo que fuiste mi profesora y por apoyarme con la parte de actividad enzimática. Gracias a las tres por compartirme tanto conocimiento en toda oportunidad.

José, gracias por ayudarme siempre que pudiste y sin recibir nada a cambio, por darme luz en los momentos más oscuros y por hacerme ver a través de tus ojos lo que no podía con los míos. Cuentas en Tijuana con una amistad sincera.

A Jenny, Jorge, Marito, Gustavo y Citlali, gracias por brindarme su apoyo el tiempo que pudieron hacerlo, por las risas, por la compañía. Se ganaron mi estima en poco tiempo.

A quienes se apuntaron a ayudar en las biometrías, muestreos y demás actividades sin ser su responsabilidad, especialmente a Liz y Vita que siempre estaban de buenas y dispuestas a tender una mano a quienes lo necesitábamos.

Quiero hacer una mención especial para la profesora Tayde que fue mi hada madrina al comienzo del experimento y que siempre llegaba al laboratorio con una sonrisa y el mejor de los ánimos.

A mi querida amiga Melissa que fue mi compañera durante este camino a pesar de la distancia, gracias por soportar mis lamentos telefónicos de 2 horas, por ayudarme siempre que pudiste, por darme ánimos y por tu valiosa amistad de siempre, te quiero muchísimo.

Brisa, Mimi y Aldo, gracias por la ayuda en los primeros semestres, las reuniones para estudiar y por su amistad, aunque no tuve oportunidad de verlos mucho durante este posgrado, los llevo en el cora.

Gracias a esas amistades que me daban ánimos constantes a través de la distancia, por mensaje o por llamada. Aminoraron las penas con su apoyo.

Gracias tía Angie por el tiempo que me pudo ayudar, por ser mi role model y enseñarme que con dedicación y constancia podemos lograr lo que nos propongamos, la quiero muchísimo.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a las maravillosas personas con quienes estuve viviendo durante mi estancia en Ensenada, especialmente la Dra. Martha y Emilio, por su calidez, las pláticas en la cocina, por alimentarme cuando llegaba cansada y por hacerme sentir como si estuviera en familia.

Resumen

Totoaba macdonaldi es un pez carnívoro endémico del Golfo de California, se le considera el miembro más grande de la familia *Sciaenidae* y durante el último siglo su pesca desmedida ha conducido a colocar a esta especie en peligro de extinción. Su cultivo controlado desde hace más de 20 años por parte de la Universidad Autónoma de Baja California ha favorecido su repoblamiento, así como el impulso de un comercio sustentable y legal del pez. Una de las problemáticas a las que se enfrenta actualmente la producción acuícola a nivel mundial, es el diseño de dietas que se adapten a las necesidades nutricionales del organismo y que no ocasionen algún efecto perjudicial en el crecimiento y rendimiento en general. Desafortunadamente cuando se trata de organismos carnívoros este objetivo se ve dificultado por la utilización de carbohidratos que exceden sus requerimientos y dan lugar a la acumulación de lípidos en diversos tejidos.

Es por lo anterior que en el presente trabajo se han diseñado 5 dietas con distintas inclusiones de los flavonoides quercetina y epicatequina (FSN 2%, QEPIB 0.25%, QEPIA 0.5%, FSN2%QEPIB0.25% y FSN2%QEPIA0.5%) y/o fibra del agave conocida como inulina, por su efecto probado en la regulación de lípidos y prebiótico, con la intención de evaluar su efecto en los parámetros de crecimiento (ganancia de peso, índice de crecimiento diario, tasa de conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteica, índices hepatosomático y viscerosomático) así como en la composición proximal de distintos tejidos (pez entero, músculo, vísceras e hígado) y en la actividad de enzimas asociadas a la digestión (tripsina, quimotripsina, lipasa, proteasas alcalinas y leucina aminopeptidasa). El bioensayo se llevó a cabo en tanques con 20 peces de peso inicial de 21.1 ± 0.1 durante 56 días. Al finalizar se encontraron pocas o nulas diferencias significativas entre las dietas experimentales y la dieta control, lo cual es indicativo de que los compuestos bioactivos utilizados no ejercieron un efecto negativo sobre el organismo, sin embargo, los organismos alimentados con la dieta QEPIB lograron sobresalir (aunque sin diferencias estadísticas) dentro de varios parámetros asociados al rendimiento general del pez. De manera que se sugiere que para seguir evaluando el efecto de la inulina y los flavonoides se realice un estudio aumentando la cantidad carbohidratos en la dieta para observar si pueden prevenir los efectos negativos que se han atribuido a estos nutrientes. También se sugiere realizar el estudio por un periodo de tiempo más grande y probar un rango mayor de concentraciones de flavonoides e inulina. Además, la realización de técnicas como análisis histológicos, metagenómicos y de expresión diferencial de enzimas, podrían permitir profundizar en el conocimiento del impacto que los flavonoides y/o inulina ejercen sobre *Totoaba macdonaldi*.

Abstract

Totoaba macdonaldi is a carnivorous fish endemic to the Gulf of California, it is considered the largest member of the Sciaenidae family and during the last century its excessive fishing has led to place this species in danger of extinction. Its cultivation under controlled conditions for more than 20 years by the Autonomous University of Baja California has favored its repopulation, as well as the promotion of a sustainable and legal fish trade. One of the problems that aquaculture production is currently facing worldwide is the design of diets that adapt to the nutritional needs of the organism and that do not cause any detrimental effect on growth and performance in general. Unfortunately, when it comes to carnivorous organisms, this objective is hampered using carbohydrates that exceed their requirements and lead to the accumulation of lipids in various tissues.

It is for this reason that in the present work 5 diets have been designed with different inclusions of the flavonoids quercetin and epicatechin (FSN 2%, QEPIB 0.25%, QEPIA 0.5%, FSN2% QEPIB0.25% and FSN2% QEPIA0.5%) and / or agave fiber known as inulin, for its proven effect on lipid and prebiotic regulation, with the intention of evaluating its effect on growth parameters (weight gain, daily growth rate, feed conversion rate, protein efficiency rate, hepatosomatic and viscerosomatic indices) as well as in the proximal composition of different tissues (whole fish, muscle, viscera and liver) and in the activity of enzymes associated with digestion (trypsin, chymotrypsin, lipase, alkaline proteases and leucine aminopeptidase). The bioassay was carried out in tanks with 20 fish with an initial weight of 21.1 ± 0.1 for 56 days. At the end, few or no significant differences were found between the experimental diets and the control diet, which is indicative that the bioactive compounds used did not exert a negative effect on the organism, however, the organisms fed the QEPIB diet managed to stand out (although without statistical differences) within several parameters associated with the general performance of the fish. So it is suggested that to continue evaluating the effect of inulin and flavonoids, a study be carried out by increasing the amount of carbohydrates in the diet to see if they can prevent the negative effects that have been attributed to these nutrients. It is also suggested to run the study for a longer period of time and test a greater range of flavonoid and inulin concentrations. In addition, the performance of techniques such as histological, metagenomic and differential enzyme expression analyzes could make it possible to deepen our understanding of the impact that flavonoids and / or inulin have on *Totoaba macdonaldi*.

Contenido tentativo

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento de problema

1.2. Justificación

1.3. Hipótesis

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

1.4.2. Objetivos específicos

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Aspectos generales de *Totoaba macdonaldi*

2.2. Situación actual de *Totoaba macdonaldi*, en su hábitat

2.2.1. Proyectos de cautiverio para *Totoaba macdonaldi*

2.3. La importancia de la dieta de *Totoaba macdonaldi* en cautiverio

2.3.1. El metabolismo de carbohidratos *Totoaba macdonaldi*

2.3.2. Aspectos relevantes de la dieta enriquecida con harina de Soya

2.3.3. Importancia de la integración de los flavonoides a la dieta

2.3.3.1. Generalidades de la quercetina

2.3.3.2. Generalidades de la (-)-epicatequina

2.3.3.3. La integración de quercetina y (-)-epicatequina en la dieta de los organismos acuícolas

2.3.3.4. La importancia de la integración de la prebióticos en la dieta

2.3.3.5. La inulina como opción de prebiótico

2.3.3.6. La integración de inulina y otros prebióticos en la dieta de los organismos acuícolas

3. METODOLOGÍA

3.1. Diseño y elaboración de dietas experimentales

3.2. Condiciones de cultivo

3.3. Biometrías y muestreo

3.4. Análisis hematológico y bioquímica sanguínea

3.5. Cálculos del rendimiento general del pez

3.6. Análisis proximales de unidades experimentales y tejidos

3.7. Análisis estadístico

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

- 4.1. Análisis proximal de unidades experimentales
- 4.2. Cálculos del rendimiento general del pez
- 4.3. Análisis proximal de pez entero
- 4.4. Análisis hematológico y bioquímica sanguínea
- 4.5. Análisis proximal de tejidos muscular, visceral y hepático
- 4.6. Análisis de actividad enzimática en intestino
- 5. CONCLUSIONES
- 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Contenido de figuras

Figura 1. <i>Totoaba macdonaldi</i> cultivada en las instalaciones de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la FCM de la UABC..	20
Figura 2.....	20
Figura 3. Diagrama de las configuraciones digestivas típicas en peces	24
Figura 4. Estructura básica de los flavonoides	26
Figura 5. Estructura de la quercetina	27
Figura 6. Estructura de la (-)-epicatequina	28
Figura 7. Estructura de la Inulina	32

Contenido de tablas

Tabla 1. Contenido de aminoácidos en distintas proteínas de soya. (Modificada de Thrane et al., 2017).....	25
Tabla 2. Composición de los ingredientes totales de las dietas experimentales (g 100 g ⁻¹ dieta para <i>Totoaba macdonaldi</i>	37
Tabla 3. Rendimiento del pez de acuerdo con dieta experimental.....	45
Tabla 4. Actividad de enzimas digestivas.....	65

Contenido de Gráficas

Gráfica 1. Análisis proximal de lípidos en dietas	41
Gráfica 2. Análisis proximal de proteínas en dietas	43
Gráfica 3. Análisis proximal de almidón en dietas	43
Gráfica 4. Análisis proximal de humedad en dietas	44
Gráfica 5. Análisis proximal de cenizas en dietas.....	45
Gráfica 6. Análisis proximal de lípidos en pez entero	50
Gráfica 7. Análisis proximal de proteínas en pez entero.....	51
Gráfica 8. Análisis proximal de humedad en pez entero.....	52
Gráfica 9. Análisis de cenizas en pez entero.....	52
Gráfica 10. Albúmina en plasma de peces alimentados con distintas dietas	53
Gráfica 11. Colesterol en plasma de peces alimentados con distintas dietas	54
Gráfica 12. Glucosa en plasma de peces alimentados con distintas dietas	54
Gráfica 13. Triglicéridos en plasma de peces alimentados con distintas dietas	55
Gráfica 14. Análisis proximal de lípidos en músculo.....	56
Gráfica 15. Análisis proximal de proteínas en músculo	57
Gráfica 16. Análisis proximal de humedad en músculo	58
Gráfica 18. Análisis proximal de lípidos en vísceras.....	59
Gráfica 19. Análisis proximal de proteínas en vísceras	59
Gráfica 20. Análisis proximal de humedad en vísceras	60
Gráfica 21. Análisis proximal de cenizas en vísceras.....	61
Gráfica 22. Análisis proximal de lípidos en hígado	62
Gráfica 23. Análisis proximal de proteínas en hígado.....	63
Gráfica 24. Análisis proximal de humedad en hígado.....	64
Gráfica 25. Análisis proximal de cenizas en hígado	64

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
(PKC)-ζ	Proteína cinasa C zeta
°C	Grado centígrado
μL	Microlitro
A1c	Hemoglobina glicosilada
ABS	Absorbancia
ADN	Ácido desoxiribonucleico
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AKT	Gen codificante para proteína cinasa B
ALT	Alanin aminotransferasa
AMP	Adenosín monofosfato
AMPK	Cinasa activada por AMP
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
AST	Aspartato Aminotransferasa
CDA	Consumo diario de alimento
CPS	Concentrado proteico de soya
CPT1	Carnitina palmitoiltransferasa I
CREMES	Centro Reprodutor de Especies Marinas del Estado de Sonora
DC	Dieta control
dL	Decilitros
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EOF	Earth Ocean Farms
Factor K	Factor de condición
Fans	Factores antinutricionales
FCM	Facultad de Ciencias Marinas
FOS	Fructo-oligosacáridos
FSN	Dieta con inclusión de inulina al 2%
FSNQEPIA	Dieta con inclusión de inulina 2% e inclusión alta de flavonoides (0.25%)
FSNQEPIB	Dieta con inclusión de inulina 2% e inclusión baja de flavonoides (0.25%)
g	Gramos
GLP-2	Péptido similar al glucagón tipo 2
GOS	Galacto-oligosacáridos
GP	Grado de polimerización
h	Hora
Hb	Hemoglobina
HDL	Lipoproteína de alta densidad (High density lipoprotein)
HepG2	Línea celular de hepatoma humano
HMO	Oligosacáridos de la leche humana
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia
HT	Hematocrito
IAES	Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora
ICD	Índice de crecimiento diario
IHS	Índice hepatosomático
IMOS	Isomalto-oligosacáridos
ISAPP	Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos
IVS	Índice viscerosomático
kcal	Kilocaloría
kg	Kilogramo
L	Litro
LDL	Lipoproteína de baja densidad (Low density lipoprotein)
m2	Metro cuadrado
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
N	Nitrógeno

nm	Nanómetro
OND	Oligosacáridos no digeribles
PP2C	Proteína fosfatasa 2C
PPAR-α	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa
QEPIA	Dieta con inclusión alta de flavonoides quercetina y epicatequina (0.5%)
QEPIB	Dieta con inclusión baja de flavonoides quercetina y epicatequina (0.25%)
rpm	Revolución por minuto
SREBP-1c	Proteína 1 de unión al elemento de respuesta a los esteroides
T. macdonaldi	Totoaba macdonaldi
TCA	Tasa de conversión alimenticia
TEP	Tasa de eficiencia proteica
UABC	Universidad Autónoma de Baja California
UBP	Unidad de Biotecnología en Piscicultura
UMA	Unidad de Manejo Ambiental
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad (Very low density lipoprotein)
XOS	Xilo-oligosacáridos

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Totoaba macdonaldi es un pez endémico del Golfo de California, se le considera el miembro más grande de la familia *Sciaenidae*, que incluye peces comúnmente conocidos como tambores, roncadore, corvinas y lubinas (Arvizu y Chávez, 1972). Puede alcanzar un peso de hasta 135 kg, una longitud de hasta 2 m, y vivir hasta 30 años en su hábitat natural (Juarez et al., 2016). Su pesca ilegal y desmedida desde principios del siglo XX ha puesto a este pez en peligro de extinción y ha amenazado también la existencia de otra especie endémica de la región, la vaquita marina (*Phocoena sinus*) (Jaramillo-Legorreta et al., 2017).

Desde hace más de 20 años, la Facultad de Ciencias Marinas (FCM) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) se ha dedicado al cultivo de esta especie como estrategia para su conservación, ya sea para su repoblamiento o para actividad comercial (Madrid et al., 2019). Hoy día, la fórmula para totoaba y la industria de alimentos acuícolas tiene la necesidad de formular con contenidos altos de carbohidratos, lo que conlleva a que se desencadenen efectos no deseables en el metabolismo del pez (Kamalam y Panserat, 2016).

Tradicionalmente, se ha recurrido a la utilización de harina de pescado en la formulación de dietas para peces marinos gracias a su alto contenido y calidad proteica y energética, y debido a la creciente demanda, la adquisición de esta fuente alimenticia se ha vuelto insostenible para los ecosistemas marinos (Changing Markets y CIWF, 2019); derivado de esta situación, se ha recurrido por un lado a reducir la inclusión de harina de pescado en las dietas comerciales y por otro a la utilización de harinas de fuentes vegetales como la soya, el maíz y el trigo por su alta disponibilidad y contenido de proteínas (Gatlin et al., 2007), sin embargo, su presencia en la dieta de los peces ha demostrado estar relacionada con la aparición de daños hepáticos e intestinales (Bañuelos-Vargas et al., 2014; Fuentes-Quesada et al., 2018) debido a la presencia de factores antinutricionales (FANs), especialmente en la harina de soya, como inhibidores de proteasas, lectinas, fitatos, saponinas, fitoestrógenos y alérgenos que pueden afectar negativamente a la salud intestinal y crecimiento del organismo, llegando a ser tóxicos (Krogdahl et al., 2010; Pelletier et al., 2018). En adición, aunque presentan un buen balance proteico, estas harinas vegetales pueden carecer de ciertos aminoácidos esenciales para el correcto desarrollo del pez; tal es el caso de la harina de soya (la más ampliamente utilizada), con bajas o nulas concentraciones de metionina, lisina y taurina (Salzey y Davis, 2015) además de que estas

alternativas de origen vegetal pueden llegar a sobrepasar los requerimientos de carbohidratos en peces carnívoros, que a diferencia de los animales terrestres, obtienen energía principalmente de las proteínas, de manera que este exceso de carbohidratos se traduce en la conversión a lípidos que se depositan y acumulan en el tejido visceral del organismo (Halver y Hardy, 2002). Esto puede afectar el crecimiento de los peces con mayor severidad, principalmente debido a una menor capacidad de obtener energía por medio de carbohidratos (Malcorps et al., 2019).

Trejo Escamilla et al. (2016) reportaron que el concentrado proteico de la soya (CPS) se puede adicionar a las dietas de *Totoaba macdonaldi* hasta en un 45% como fuente de proteína, con respuestas favorables en contraste con la harina de soya. Para esta inclusión de CPS Budi Satriyo et al. (2016), reportaron que es necesaria una inclusión de taurina de 0.45% para la obtención de rendimientos adecuados. No obstante, los peces siguen presentando acumulación de lípidos en hígado y vísceras, por lo que en este trabajo se propone incorporar a la dieta de *T. macdonaldi* dos flavonoides (quercetina y epicatequina) y/o inulina, por los efectos que han evidenciado ejercer sobre el metabolismo de estos macronutrientes.

1.2 JUSTIFICACIÓN

En el diseño de alimentos que obedezcan a las necesidades nutrimentales de *T. macdonaldi* sin representar un perjuicio para el rendimiento ni para la economía de su cultivo, la sustitución parcial o total de la harina de pescado por harinas de origen vegetal, especialmente del CPS, ha representado una notable mejora en estos aspectos. Sin embargo, a pesar de los procesos de purificación a los que son sometidos estos ingredientes, sigue habiendo presencia de FANs y fracciones de carbohidratos que intervienen con el óptimo desarrollo de la especie.

Es debido a lo anterior, que en el presente trabajo, se considera la integración de dos flavonoides y/o inulina a la dieta actual de *T. macdonaldi*, por los múltiples estudios que han servido como evidencia de los beneficios que otorgan a la salud, principalmente en humanos y mamíferos. En el caso de los flavonoides se ha presentado un interés creciente de investigación debido a su capacidad para limitar el daño oxidativo de las células, eliminar radicales libres y prevenir enfermedades coronarias; así como hepatoprotección, desarrollo de actividades antiinflamatorias y anticancerígenas, actividades antivirales potenciales, disminución en la incidencia de diabetes tipo 2 y trastornos neuromusculares (Beecher, 2003; Lee et al., 2007). Por otro lado, la inulina al ser una fibra dietética soluble, expone efectos asociados al metabolismo de lípidos y carbohidratos, como la reducción de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés) tanto en mamíferos como en ciertos peces (Shoaib et al., 2016; Ahmed y Rashid, 2017; Yones et al., 2020, Zhou et al., 2020).

De manera que es necesario evaluar en *T. macdonaldi* el efecto protector o preventivo que dichos compuestos bioactivos ejercen en sinergia sobre el rendimiento general, a través parámetros de crecimiento y bioquímicos, así como de una digestibilidad *in vitro* de las dietas elaboradas y un análisis de las enzimas que se emplean como biomarcadores de daño hepático, alanin aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). Esto dará lugar a la generación de conocimiento que permita un mejor aprovechamiento de los flavonoides y/o inulina en la elaboración de dietas para totoaba y otras especies acuícolas carnívoras de interés para la acuicultura, contribuyendo a la producción sustentable de organismos competentes para el consumo humano y para el suministro al medio natural.

1.3 HIPÓTESIS

La suplementación de dos flavonoides y/o inulina al alimento de *Totoaba macdonaldi* no ejerce efectos negativos sobre el metabolismo y rendimiento general del pez.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de incorporar dos flavonoides y/o inulina a la elaboración de alimento para *T. macdonaldi* con el fin de conocer la respuesta en el mantenimiento de la homeostasis en tejidos viscerales e hígado y en el rendimiento general del pez.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento de *T. macdonaldi* al ser alimentada con dos flavonoides y/o inulina por su efecto probado en el mantenimiento de la homeostasis en el organismo.
- Determinar y comparar parámetros fisiológicos como peso ganado, % supervivencia, eficiencia alimenticia, eficiencia proteica, factor de condición (K).
- Determinar y comparar parámetros bioquímicos que permitan la evaluación del efecto que la adición de los componentes bioactivos ejerce sobre el pez, como hematocrito, hemoglobina, concentraciones plasmáticas de albúmina, proteínas totales, triglicéridos, colesterol y glucosa.
- Evaluar digestibilidad del pez a través de análisis de actividad enzimática (tripsina, quimotripsina, lipasa, proteasas alcalinas y leucina aminopeptidasa)

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Aspectos generales de *T. macdonaldi*

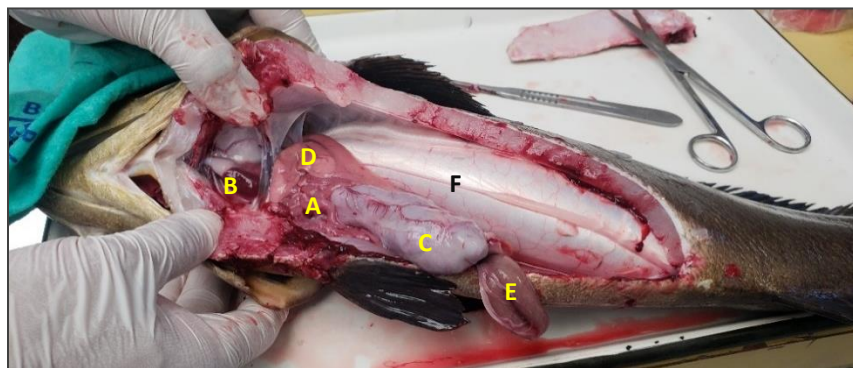
Como ya se ha mencionado anteriormente, *T. macdonaldi* es una especie perteneciente a la familia *Sciaenidae* (familia de las corvinas), cuyos miembros son llamados habitualmente “roncadores” o “tambores” debido al sonido que producen gracias sus vejigas natatorias como una forma de localización (Cárdenas, 2012). Se encuentra exclusivamente en el Golfo de California desde la desembocadura del río Colorado hasta el río Fuerte, Sinaloa, en la costa oriental y del río Colorado a Bahía del Coyote, en Bahía Concepción, Baja California, en la costa occidental (Arvizu y Chávez, 1972). Estos peces son depredadores generalistas y comen peces e invertebrados bentónicos, crustáceos e incluso moluscos de caparazón duro (Hastings et al., 2014).

Figura 1. Totoaba macdonaldi cultivada en las instalaciones de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la FCM de la UABC. Foto tomada por Lus López.



La siguiente figura muestra parte de los órganos observados en *T. macdonaldi* tras realizar una disección, como parte de una biometría realizada en la FCM de la UABC:

Figura 2. Visualización de órganos de un ejemplar de *Totoaba macdonaldi*



- A) Ciegos pilóricos
- B) Corazón
- C) Estómago
- D) Hígado
- E) Intestino
- F) Vejiga natatoria

2.2 Situación actual de *T. macdonaldi* en su hábitat

En el golfo de California, *T. macdonaldi* representa una especie endémica, lo que permitiría su reproducción natural en óptimas condiciones, sin embargo, desde 1975, debido a su sobreexplotación e impactos antropogénicos en su entorno natural, *T. macdonaldi* ha sido incluida en la lista de especies en peligro de extinción de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010.

En la actualidad, lamentablemente parte de la problemática con la comercialización ilegal se relaciona con la propia fisiología del pez, ya que este cuenta con una vejiga natatoria conocida también como buche, que es un órgano lleno de gas que se encuentra en la mayoría de los peces vertebrados y que les confiere la capacidad de regular su flotabilidad (Grom, 2015). Este órgano es altamente apreciado en China debido a sus supuestos efectos medicinales y afrodisíacos (Heckel et al., 2018). Por lo anterior, se ha establecido un comercio lucrativo entre mexicanos y chinos, donde los precios de vejiga seca de *T. macdonaldi* pueden exceder los 20,000 dólares por kg (EIA, 2019; Juárez et al., 2016), ante lo cual, las regulaciones implementadas por las autoridades mexicanas han resultado poco eficientes (Juárez et al., 2016), pero de gran impacto para la economía de la comunidad pesquera del estado que se ha visto afectada, así como el número de ejemplares apresurando su extinción.

2.2.1 Proyectos de cautiverio para *T. macdonaldi*

Actualmente, en México son tres los grandes centros reproductores de *T. macdonaldi*: UABC, el Instituto de Acuacultura del Estado de Sonora (IAES) y el laboratorio comercial de Earth Ocean Farms (EOF) (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca [CONAPESCA], 2017).

Fue la UABC campus Ensenada la que dio lugar en 1993 a la planeación de un programa para el cultivo de esta especie, siendo en 1998 cuando se pudo llevar a cabo su reproducción en cautiverio por primera vez, dando origen a la instalación de una UBP (True, 2012).

Después, en 2012, se le otorgó al IAES una Unidad de Manejo Ambiental (UMA) dentro del Centro Reprodutor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES), ubicado en Bahía Kino, con fines de investigación, reproducción, aprovechamiento extractivo y repoblación.

Finalmente, el EOF comenzó a operar en 2015, en La Paz, Baja California Sur llevando a cabo un plan de repoblamiento de la especie en conjunto con la Dirección de Vida Silvestre de la SEMARNAT por un lado y por otro, se ha dedicado a su cultivo sustentable, llevando a cabo su comercialización nacional de manera legal.

2.3 La importancia de la dieta de la *T. macdonaldi* en cautiverio

Como se mencionó anteriormente, al ser un pez carnívoro, sus requerimientos dietéticos son altos en proteínas (Rueda-López et al. 2011) y dado que es necesario encontrar un equilibrio entre los costos y los beneficios –alimentarios para lograr el éxito en el cultivo de cualquier especie, el reemplazo de la harina de pescado en las dietas para *T. macdonaldi* es actualmente uno de los principales desafíos debido a la insostenibilidad que representa su utilización (López et al., 2015). Durante su cultivo se ha recurrido a la formulación de alimentos con harinas a base de diversos ingredientes, Badillo Zapata et al. (2016) por ejemplo, demostraron que es posible utilizar hasta un 67% de harina de subproductos avícolas, aunque con su incremento disminuía el contenido de lisina. Las harinas vegetales son las que han tomado mayor relevancia en su estudio, siendo las de soya las que se utilizan en mayor medida (Bañuelos-Vargas et al., 2014; Fuentes-Quesada et al., 2018; López et al., 2015). Trejo Escamilla (2016) y Espinoza Acevedo (2017) evidenciaron que el uso de CPS disminuye gradualmente los efectos negativos de este e comparación con la harina entera de soya.

Si bien la utilización de alimentos derivados de fuentes vegetales ha resultado ser una alternativa prometedora, existen desventajas debido a que su perfil de aminoácidos difiere del que presenta la harina de pescado, con una carencia de taurina, que es un importante precursor en la formación de la bilis, además de brindar estabilidad a las membranas de los eritrocitos, por lo que su ausencia puede desencadenar la extravasación de la biliverdina hepatopancreática, dando como resultado un hígado con coloración verdosa, el “síndrome del hígado verde” (Takagi et al., 2006). De manera que es un modulador importante del metabolismo intermedio del hígado cuando está presente al 1% en las dietas (Salze y Davis, 2015). Además, este tipo de ingredientes presentan baja digestibilidad y palatabilidad, y FANs que pueden alterar la condición fisiológica y el crecimiento de los organismos carnívoros (daño de la integridad de la mucosa intestinal, disminución de las enzimas pancreáticas, pérdida de nitrógeno en las heces, supresores de la hormona tiroidea, menor absorción de minerales, palatabilidad reducida, supresión del sistema inmune y daño hepático) (Kroghdahl et al. 2010). Todo lo anterior aunado a la pobre digestibilidad de carbohidratos mencionada anteriormente, de la cual se deriva la problemática de la acumulación lipídica en vísceras.

2.3.1 El metabolismo de carbohidratos en *T. macdonaldi*

Al igual que el resto de los peces carnívoros, tiene una habilidad limitada para obtener energía a través de los carbohidratos, por lo que sus requerimientos energéticos se cumplen en mayor medida con el consumo de proteínas y lípidos (Halver y Hardy, 2002); de manera que el exceso de carbohidratos conduce a la síntesis de lípidos que se van almacenando en el hígado, dando como resultado esteatosis hepática y una acumulación excesiva en el resto de las vísceras (True, 2012). De hecho, Halver y Hardy (2002) señalan que la ingesta dietética de lípidos preformados conduce a una muy buena eficiencia de su utilización, mientras que la síntesis *de novo* de lípidos a partir de carbohidratos dietéticos conduce a una eficiencia menor.

En peces, los organismos con hábitos alimenticios carnívoros presentan estómagos más amplios que permiten una mejor degradación de las proteínas y parte de los lípidos gracias a la presencia de proteasas y lipasas; por otro lado sus intestinos son de un menor tamaño, lo que se traduce en un menor tiempo de transito de los nutrientes, y si bien esto no supone gran problema para los lípidos que ya han sido hidrolizados en el estómago y al llegar a la porción intestinal se encuentran listos para su absorción, en el caso de los carbohidratos representa un obstáculo ya que generalmente los peces carnívoros no cuentan con las enzimas necesarias para utilizarlos como fuente energética. En todo caso es en gran medida la microbiota la que suele encargarse del catabolismo de los carbohidratos, sin embargo, la longitud del intestino sigue siendo una limitante (Halver y Hardy, 2002).

Por otro lado, los organismos diseñados para asimilar de una mejor manera los alimentos de origen vegetal y, por lo tanto, los carbohidratos, tendrán estómagos más pequeños e incluso inexistentes, mientras sus intestinos presentarán longitudes mayores que por lo tanto permitirán que los nutrientes permanezcan más tiempo para que la microbiota, la cual también es más abundante en este caso, pueda encargarse de su digestión. La Figura 2 esquematiza las diferencias fisiológicas entre los distintos tipos de sistemas digestivos encontrados en los peces, en función de sus requerimientos nutricionales.

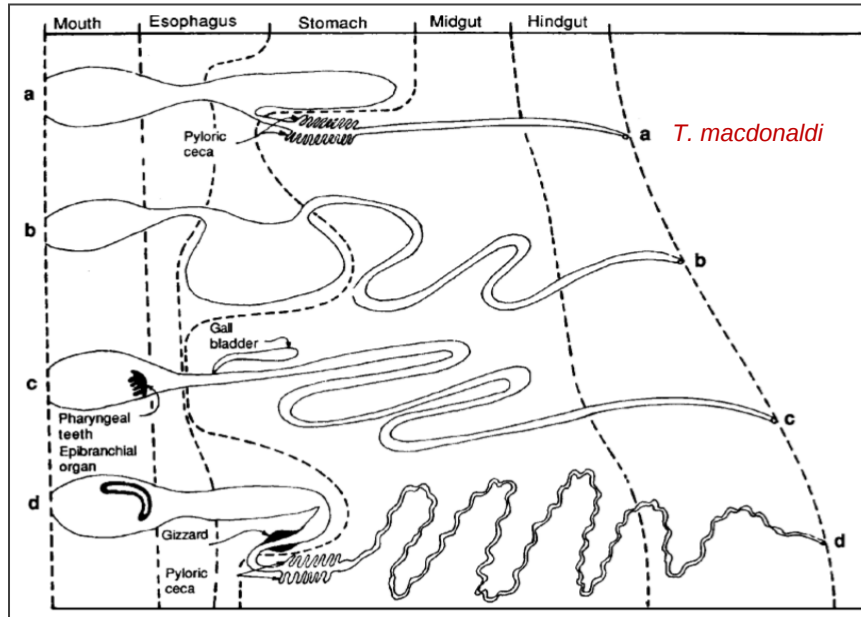


Figura 3. Diagrama de las configuraciones digestivas típicas en peces (Halver y Hardy, 2002)

Donde:

- a) Carnívoro con estómago en forma de “y” (configuración que presenta *T. macdonaldi*)
- b) Omnívoro con énfasis en la alimentación de origen animal. Estómago en forma de bolsa.
- c) Omnívoro con énfasis en la alimentación de origen vegetal. Estómago ausente.
- d) Herbívoro. Estómago tabular con molleja muscular.

2.3.2 Ventajas de la utilización de harina de soya

Dado que los elevados niveles de harina y aceite de pescado necesarios para cubrir las necesidades dietéticas de la totoba de cultivo han resultado en altos costos de alimentación, las inclusiones parciales o totales de CPS a la dieta del pez han hecho frente a esta situación. Este tipo de proteína es considerada de muy alta calidad ya que contiene un buen balance de aminoácidos y produce mejores resultados que el resto de fuentes proteicas alternativas en el rendimiento de los peces (Dersjant-Li, 2002).

La Tabla 1 muestra el contenido de aminoácidos (g 100g proteína⁻¹), así como el porcentaje de digestibilidad verdadera que se puede encontrar en la soya, según el tratamiento al que se someta:

Tabla 1. Contenido de aminoácidos en distintas proteínas de soya. (Modificada de Thrane et al., 2017).

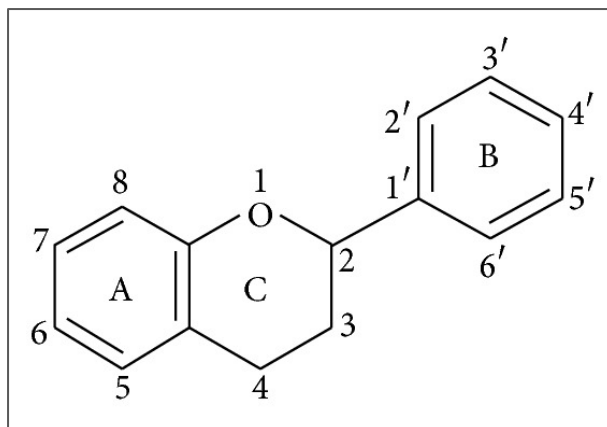
Análisis	APS	CPS	Harina de soya
Alanina	4.3	4.4	4.4
Arginina	8.5	7.8	7.3
Aspartato	12.4	11.6	11.9
Cisteína	1.3	1.5	1.5
Glutamato	19.6	18.9	18.3
Glicina	4.2	4.3	4.4
Histidina	2.6	2.5	2.5
Isoleucina	4.9	4.6	4.6
Leucina	8.2	7.9	7.7
Lisina	6.4	6.5	6.3
Metionina	1.3	1.4	1.3
Fenilalanina	5.2	5.0	4.9
Prolina	5.2	5.3	5.5
Serina	5.1	5.2	5.5
Treonina	3.7	4.0	4.1
Triptófano	1.4	1.3	1.4
Tirosina	3.9	3.7	3.6
Valina	5.1	5.0	4.7
Metionina + Cisteína	2.6	3.0	2.8
Fenilalanina + Tirosina	9.2	8.8	8.5
Digestibilidad verdadera	97%	95%	84%

2.3.3 Importancia de la integración de los flavonoides a la dieta

Los flavonoides consisten en un gran grupo de compuestos polifenólicos que tienen una estructura de benzo- γ -pirona y se encuentran ubicuamente presentes en las plantas, las cuales los sintetizan en respuesta a la infección microbiana (Mahomoodally et al., 2005). Son reconocidos por su fuerte capacidad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena y hepatoprotectora, así como su capacidad de disminuir o regular los niveles séricos de glucosa y colesterol (Lee et al., 2007). Centrándonos en el tema de hepatoprotección, se ha descubierto que los flavonoides tienen efectos positivos sobre el metabolismo de los lípidos, la resistencia a la insulina, la inflamación y el estrés oxidativo: vías fisiopatológicas importantes en la enfermedad del hígado graso no alcohólico (Van De Wier et al., 2017). Químicamente los flavonoides se basan en un esqueleto de quince carbonos que consiste en dos anillos de benceno (A y B, como se muestra en la Figura 1) unidos a través de un anillo de pireno heterocíclico (C). Se pueden dividir en una variedad de clases tales como flavonas (flavona, apigenina y luteolina), flavonoles (quercetina, kaempferol, miricetina y fisetina), flavanonas (flavanona, hesperetin y naringenina), entre otros. Estas clases difieren en el nivel de oxidación y el patrón de sustitución del anillo C,

mientras que los compuestos individuales dentro de una clase difieren en el patrón de sustitución de los anillos A y B (Heim et al., 2002; Middleton, 1998).

Figura 4. Estructura básica de los flavonoides



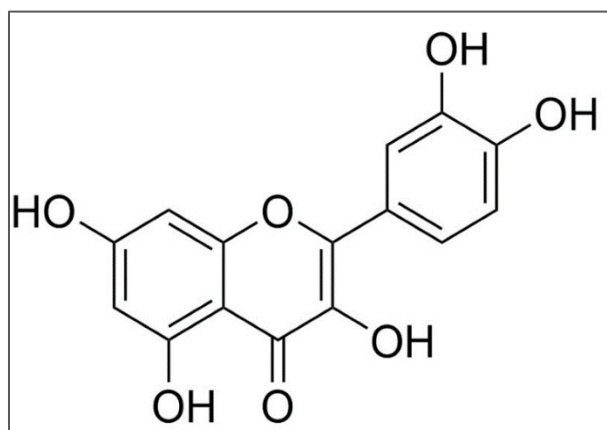
La mayoría de los flavonoides están presentes en la naturaleza como glucósidos y otros conjugados (los flavanoles son una excepción), lo que contribuye a su complejidad y al gran número de moléculas individuales que se han identificado (más de 5000) (Beecher, 2003). Muchos flavonoides se reconocen fácilmente como pigmentos florales en la mayoría de las familias de angiospermas. Sin embargo, su aparición no se limita a las flores sino que se encuentran en todas las partes de las plantas (Dewick, 2009). Los flavonoides también se encuentran abundantemente en alimentos y bebidas de origen vegetal, como frutas, verduras, té, cacao y vino; por lo tanto, se denominan flavonoides dietéticos. Las diversas clases en las que se dividen los flavonoides tienen fuentes principales únicas. Por ejemplo, las cebollas y el té son las principales fuentes dietéticas de flavonoles y flavonas. Por lo anterior, los polifenoles vegetales más comunes y que se obtienen en mayor cantidad de la dieta diaria son de origen vegetal (Chun et al., 2007). Sin embargo, la ineficiente administración sistémica y la pobre biodisponibilidad oral de estos compuestos polifenólicos bioactivos han limitado en gran medida sus aplicaciones a los humanos (Siddiqui et al., 2009). Algunos de los problemas que se presentan al desarrollar nuevas alternativas en las que se puedan tomar los beneficios de estos compuestos y que favorezcan la salud del ser humano han sido: baja solubilidad, inestabilidad en las condiciones encontradas en el tracto gastrointestinal (pH, enzimas, presencia de otros nutrientes), tiempo de residencia gástrica insuficiente y la dificultad de que muchos polifenoles

se difundan a través de las células a través de las membranas celulares de la bicapa lipídica (Heleno et al., 2015; Li et al., 2015).

2.3.3.1 Generalidades de la quercetina

La quercetina es uno de los flavonoides más abundantes; se encuentra en una gran variedad de frutas y verduras, principalmente en aquellas de hoja verde, té negro, arándanos, cebolla, grosella negra, nuez, manzana, uva roja y apio (Dmitrienko et al., 2012). Se clasifica como flavonol, una de las seis subclases de compuestos flavonoides y es un inhibidor de transporte de auxina polar de origen natural (Li et al., 2016). -Es de color amarillo y es poco soluble en agua caliente, bastante soluble en alcohol y lípidos e insoluble en agua fría. Debido a las cuestiones de poca solubilidad en agua anteriormente mencionadas, resulta difícil su incorporación para la realización de alimentos, por lo que, entre las alternativas que se han investigado, la nanoencapsulación ha resultado favorecedora para estos efectos (Chávez-Santoscoy et al., 2016; Lesjak et al., 2018; Lin y Zhou, 2018).

Figura 5. Estructura de la quercetina



La evidencia señala que la quercetina ejerce efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, antivirales, anticancerígenos, cardioprotectores, neuroprotectores y hepatoprotectores (Abdel-Hamid et al., 2016; Gruse et al., 2015; Kale et al., 2018; Velázquez et al., 2014). Se dice que la quercetina es uno de los bioflavonoides más utilizados para el tratamiento de trastornos metabólicos e inflamatorios (Lakhanpal y Rai, 2007).

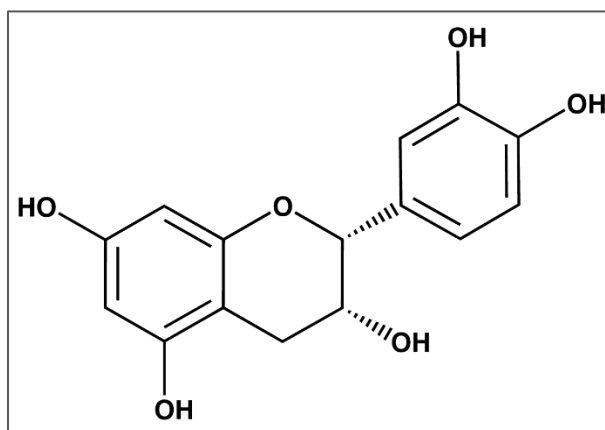
Marcolin et al. (2013) administraron quercetina durante 4 semanas a grupos de 16 ratones con hígado graso inducido y obtuvieron como resultado una inhibición en la acumulación de lípidos

en el hígado, disminución de las enzimas AST y ALT, así como de daño al ADN, concluyendo que los efectos protectores de la quercetina están mediados por la mejora de la integridad del hígado. Jung et al. (2013), suplementaron quercetina durante 9 semanas a ratones C57B1/6 sometidos a una dieta alta en grasas y lograron disminuir los niveles de lípidos en suero, el peso corporal, peso de hígado y peso de tejido adiposo blanco mediante la regulación de varios genes relacionados con el metabolismo de los lípidos. Panchal et al. (2012) trataron grupos de 10 ratas con quercetina durante las últimas 8 semanas de un periodo de 16 semanas de una dieta rica en grasas y determinaron que la grasa abdominal se reducía al igual que la esteatosis hepática; la quercetina evitó la infiltración de células inflamatorias en el hígado y redujo la fibrosis portal junto con mejoras en la función hepática además de que aumentó la expresión de CPT1, un regulador de la oxidación de ácidos grasos en el hígado, llevando a la atenuación de la esteatosis.

2.3.3.2 Generalidades de la (-)-epicatequina

La epicatequina es un flavonoide el tipo flavanol que ha demostrado tener diversos beneficios para la salud (Prakash et al., 2019). Se encuentra principalmente en el cacao, té verde y té negro, que es la bebida mayormente consumida mundialmente. Además, también puede ser encontrada en manzanas, naranjas, peras, uvas negras, moras, cerezas, frambuesas, vino tinto y chocolate (de Pascual-Teresa et al., 2000; Xu et al., 2004). Entre sus principales actividades biológicas se encuentran la actividad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, antitumoral, cardioprotectora y anticancerígena (Li et al., 2014). Al igual que la quercetina y el resto de los flavonoides, debido a su baja biodisponibilidad resulta difícil incorporarla a alimentos, sin embargo se ha demostrado que el uso de la nanotecnología ha sido útil para hacer frente a este problema, incrementado la efectividad de las actividades biológicas que ejerce sobre el organismo (Fraga y Oteiza, 2011; Monika et al., 2017).

Figura 6. Estructura de la (-)-epicatequina



En un estudio realizado por Cheng et al. (2017) con cinco grupos de 12 ratas con hiperlipidemia inducida, a los cuales se le administró epicatequina a diferentes dosis durante 12 semanas y se obtuvo como resultado una reducción significativa de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos, alivio en la acumulación de grasa en el hígado y aumento del colesterol HDL (colesterol bueno). Además, se redujo la peroxidación lipídica, se inhibieron las citocinas proinflamatorias y se redujeron los niveles de AST y ALT en suero. Eleonora Cremonini et al. (2018) demostraron que al suplementar (-)-epicatequina (2 a 20 mg /kg⁻¹ de peso corporal) a la dieta de ratones machos C57BL/6J con obesidad, esteatosis y resistencia a insulina inducidas durante 15 semanas, se pudieron mitigar los efectos adversos asociados a estas condiciones, como el aumento de la permeabilidad intestinal, disminución en la expresión de proteínas de uniones estrechas del íleon y endotoxemia. La (-)-epicatequina actuó modulando las señales celulares y la hormona intestinal GLP-2, que son fundamentales para la regulación de la permeabilidad intestinal.

Cordero-Herrera et al. (2015) administraron una dieta enriquecida con cocoa en ratas macho Zucker con diabetes tipo 2 durante 9 semanas y se encontró una reducción en el aumento de peso corporal y una mejora en los niveles de lípidos en sangre y hepáticos. De manera similar, la epicatequina de cocoa mejoró los niveles alterados de lípidos en células HepG2 expuestas a cantidades elevadas de glucosa. Los autores relacionaron el efecto reductor de lípidos con una disminución en la síntesis de ácidos grasos (regulación negativa de SREBP-1c y ácido graso sintasa) y un incremento en la oxidación de ácidos grasos (Regulación positiva de PPAR- α). Estos efectos dependen de la cinasa activada por AMP (AMPK), proteína cinasa B (AKT) y proteína cinasa C (PKC)- ζ , cuyos niveles fosforilados volvieron a valores control tras la administración de cocoa o (-)-epicatequina.

Se ha reportado que tanto quercetina como epicatequina disminuyen la síntesis de ácidos grasos y contribuyen al descenso de los niveles de lípidos en el organismo mediante la regulación negativa de la fosfatasa 2C (PP2C), lo cual activa a la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) que a su vez fosforila receptores nucleares implicados en la β -oxidación de los ácidos grasos y también mediante fosforilación inhibe la actividad de aquellos implicados en la lipogénesis (Gutiérrez-Salmeán et al., 2014; Hoek-van den Hil et al., 2013; Jung et al., 2013; Lu et al., 2010; Si et al., 2019). La activación de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) inhibe la síntesis de ácidos grasos hepáticos al suprimir la proteína de unión a elementos reguladores de esteroides (SREBP) -1c, un regulador maestro de la expresión de genes lipogénicos hepáticos (Yap et al., 2011). La AMPK estimula la activación de los receptores activados por el proliferador de

peroxisomas (PPAR), los cuales son factores de transcripción nuclear que controlan la expresión de ARNm de numerosos genes implicados en el metabolismo energético, como la oxidación de ácidos grasos y la disminución del nivel de lípidos circulantes, contribuyendo a el transporte inverso del colesterol mediado por HDL, las lipoproteínas de alta densidad transportadoras de colesterol también conocidas como “colesterol bueno” (Goto et al., 2011; Rigano et al., 2017).

2.3.3.3 La integración de quercetina y (-) -epicatequina en la dieta de los organismos acuícolas

Son múltiples los estudios que se han realizado sobre quercetina en materia de acuicultura, demostrando que puede presentar efectos positivos como antioxidante en el almacenamiento de aceite de pescado (Nieto et al., 1993). Plakas et al. (1985) evidenciaron que la quercetina no es tóxica para la trucha arcoíris (*Salmo gairdneri*) cuando se administró a tres réplicas de taques con 14 peces cada uno durante 8 meses al 1 y 5%. Park et al. (2009) reportaron que tras la administración de quercetina 1% durante 15 semanas a la dieta de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*), esta es absorbida y depositada principalmente en forma de aglicona en el cuerpo después de la absorción, dando como resultado una disminución en los lípidos favorable para el pez. Posteriormente, Zhai y Liu (2013) demostraron que mejora el crecimiento e inmunidad de la tilapia (*Oreochromis* spp.), además de que reduce el contenido de lípidos al disminuir el colesterol LDL y aumentar el colesterol HDL, cuando se comparó el grupo control con grupos alimentados con 0.02 y 0.04% de quercetina a grupos de 20 peces durante 7 semanas.

En cuanto a epicatequina Kesbiç y Yigit (2019) Sometieron un extracto de semilla de uva a un proceso térmico, el cual consistió en exponer dicho extracto a una temperatura de 120°C y una humedad del 98% durante 15 minutos, lo cual aumentó el tamaño del gránulo (En una reacción química, conocida como "reacción de Maillard", los aminoácidos y los azúcares reductores reaccionan durante el proceso térmico para formar compuestos aromáticos) y posteriormente se cuantificó el contenido de epicatequina mediante HPCL, donde se utilizó una columna de fase inversa y a su vez se utilizaron agua y metanol como fases móviles; La elución se realizó a un caudal de disolvente de 0.6 ml min⁻¹. La identificación se realizó usando un detector de matriz de fotodiodos y se obtuvieron cromatogramas a 280 nm. Durante los análisis, la temperatura de la columna se estableció en 40°C y el volumen de inyección de la muestra fue de 20 µL, dando como resultado una cantidad de epicatequina de 1.156 mg L⁻¹. Esto mejoró la actividad de la epicatequina sobre ejemplares de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados durante 90 días, dando mayores rendimientos de crecimiento a inclusiones de 1.05%. Yuan et al. (2019) reportaron que la epicatequina es eficaz para reducir las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico inducidas por la oxidación de lípidos en el aceite de pescado, interrumpiendo la

formación de pigmentos similares a lipofuscina, carbonilación de proteínas y productos finales de oxidación lipídica avanzada relacionados con malondialdehído. Nakagawa et al. (2000) incorporaron durante 41 días, gránulos secos con 1% de Teaflan, los cuales a su vez contenían 60% de catequina dietética (isómero de la epicatequina) a la alimentación del pargo japonés (*Pagrus major*), obteniendo un aumento significativo en las concentraciones totales de ascorbato en el suero y el hígado en los grupos alimentados con catequina en relación con el control así como una disminución en los niveles de ácidos grasos no esterificados y lípidos totales en suero, además de una notable depresión de los lípidos del hígado. Los contenidos de carnitina libre hepática y acilcarnitina de cadena larga fueron marcadamente más altos y la fracción de colágeno insoluble (no soluble a 70°C) fue mayor, mejorando así el metabolismo de la vitamina C. Lo anterior conduce a una mejora y elevación del crecimiento, la eficiencia alimentaria, los componentes corporales, la respuesta al estrés y la resistencia a enfermedades.

2.3.3.4 La importancia de la integración prebióticos en la dieta.

Los prebióticos son descritos por la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP, por sus siglas en inglés) como sustratos que son utilizados selectivamente por microorganismos huéspedes que confieren un beneficio para la salud (Gibson et al., 2017). Los aspectos clave de los prebióticos son que el hospedero no cuenta con la capacidad de digerirlos y que benefician la salud del individuo gracias a su influencia positiva sobre los microbios beneficiosos nativos (WGO, 2017).

Muchas fibras dietéticas, especialmente las fibras solubles, exhiben alguna actividad prebiótica; sin embargo, los compuestos sin fibra no están excluidos de ser clasificados como prebióticos, asumiendo que cumplen los criterios funcionales requeridos.

Los oligosacáridos no digeribles (OND) que son propiamente considerados prebióticos con base en evidencias científicas robustas son: inulina, fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS).

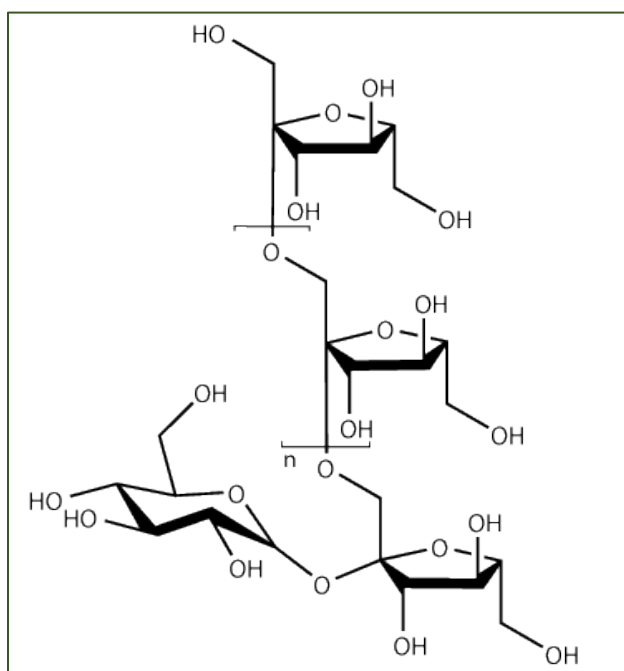
Otros OND que son considerados candidatos al satisfacer algunos, pero no todos los criterios para ser considerados prebióticos son: arabinoxilano, almidón resistente, polidextrosa, isomalto-oligosacáridos (IMOS), xilo-oligosacáridos (XOS), oligosacáridos de la leche humana (HMO) y gluco-oligosacáridos

2.3.3.5 La Inulina como opción de prebiótico

La inulina es un polisacárido soluble de reserva de las plantas que se encuentra principalmente en aquellas pertenecientes al orden asterales como achicoria, alcachofa de Jerusalén y dalia, aunque también se puede encontrar en ajo, raíz de espárragos, salsifí, raíz de diente de león, cebolla, plátano, trigo, centeno y cebada (Mensink et al., 2015).

La inulina presenta una estructura formada por un número variable unidades de fructosa (polisacárido del tipo fructano), unidas por enlace β -(2 $\rightarrow$ 1), normalmente terminadas en una unidad de glucosa unida a través de un enlace α -D-glucopiranosil (1 $\rightarrow$ 2), formando una molécula de sacarosa (Apolinário y col., 2014). Este tipo de enlaces, junto a la configuración β del C2 anomérico que exhibe la inulina, hacen que sea indigerible en el intestino delgado al ser resistente a la hidrólisis por enzimas digestivas que tienen especificidad por enlaces α -glicosídicos y de esta manera pasa intacta en su recorrido por el tracto gastrointestinal hasta el colon, donde es totalmente hidrolizada y fermentada por microbiota selectiva como bifidobacterias y lactobacilos (Karimi, Azizi, Ghasemlou y Vaziri, 2015); además, este tipo de enlaces también son responsables de su bajo valor calórico a lo largo de su comportamiento como fibra dietética (Shoaib et al., 2016).

Figura 7. Estructura de la Inulina



Tiene cadenas que incorporan de 2 a 100 unidades de fructosa cuya longitud dependerá de la especie, la fase en su ciclo de vida, la fecha de recolección y los procedimientos de extracción y post-extracción (Barclay et al., 2010).

Según el grado de polimerización (GP), se hace una distinción estricta entre la inulina de origen vegetal y de origen microbiano. El GP de la inulina en una planta es bastante bajo (máximo 200), mientras que la inulina bacteriana tiene un GP muy alto, puede alcanzar los 100 000 o más unidades de fructosa, por otra parte, esta inulina se encuentra muy ramificada (= 15%). En la inulina de origen vegetal, las unidades de fructosa enlazadas a la glucosa terminal pueden variar desde algunas unidades hasta 70, lo que significa que la inulina es una mezcla de oligómeros y polímeros, definiéndose como un polifructano con un GP mayor a 30 unidades.

Las propiedades fisicoquímicas de la inulina están estrechamente relacionadas con su GP, así como, con la presencia de ramificaciones. La fracción de cadena corta, oligofructosa, tiende a presentar una solubilidad más alta y con un característico sabor más dulce, que la inulina nativa, mientras que la fracción de cadena larga es menos soluble, más viscosa y termoestable que la inulina nativa (Apolinario et al., 2014). La solubilidad de la inulina en agua aumenta notablemente con la temperatura, observándose solubilidades casi nulas a 25°C y alcanzando aproximadamente el 35% a 90°C. (Mudannayake et al., 2015). Partes de la estructura molecular, específicamente los grupos hidroxilo, son más capaces de interactuar con el agua que otras partes. Esto proporciona a la inulina cierto carácter tensioactivo y es capaz de formar geles estables con agua en concentraciones de 13-50%. Las propiedades gelificantes para inulina de achicoria estándar e inulina de cadena larga pueden ser mayores del 25 y 15%, respectivamente (Davis, 2017). Sin embargo, la estabilidad química de la inulina disminuye en entornos ácidos a $\text{pH} \leq 4$ debido al tiempo de calentamiento y al aumento de temperatura, limitando así las aplicaciones de inulina en alimentos ácidos, especialmente calentados a temperaturas superiores a 60°C (Öztürk y Serdaroğlu, 2017).

Una vez que es metabolizada por la microbiota selectiva del colon, da lugar a la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (acetato, butirato y propionato), los cuales ejercen efectos benéficos sobre el metabolismo de los lípidos, al actuar como sustratos de los ácidos grasos e impedir la lipogénesis. Zhu et al. (2019) administraron durante 10 semanas una dieta alta en grasas con inulina 1g kg^{-1} de peso corporal a grupos de 10 ratones y encontraron una reducción del peso de los ratones obesos en las semanas 6-9, además otro grupo de ratones alimentados con inclusiones de inulina de 5g kg^{-1} de peso corporal presentó una actividad notablemente mayor de la glutatión peroxidasa en hígado, además de aumentar la abundancia de bacterias benéficas como *Alistipe*, *Akkermansia*, *Bacteroidales_S24-7*, *Erysipelotrichaceae* y *Lactobacillus* en el colon.

Hiel et al. (2018) administraron durante 4 semanas a 18 ratones C57BL/6J de 9 semanas de edad una dieta occidental (45% kcal de grasa) y posteriormente dividieron ese grupo en un grupo sin y otro con suplementación de inulina nativa 0.2 g día⁻¹ por ratón en el agua potable durante 2 semanas. Posteriormente, realizaron una prueba de tolerancia a los lípidos y evaluaron la concentración de triglicéridos y ácidos grasos libres durante 4 h. La suplementación con inulina en la dieta occidental condujo a una mejora significativa de la hipertrigliceridemia, sin embargo, no influyó significativamente en la concentración de ácidos grasos libres. Los mecanismos implicados incluyeron una mejora potencial de la sensibilidad a los lípidos en el yeyuno y un aumento en la excreción de lípidos fecales.

Nishimura et al. (2015) realizaron un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, sobre el efecto de un extracto de raíz de achicoria el cual contenía inulina en 47 adultos sanos durante 4 semanas. Los individuos se dividieron en un grupo de prueba que consumió extracto de raíz de achicoria y un grupo placebo (300 ml diarios). Aunque no se observaron diferencias significativas en la glucosa plasmática en ayunas o en la insulina, se encontró que la hemoglobina A1c disminuía al ingerir el extracto de raíz de achicoria, además, en este grupo el nivel de adiponectina mejoró significativamente cuando se compararon los valores iniciales y posteriores a la intervención.

Adivina et al. (2015) realizaron un ensayo de control paralelo, doble ciego, en el cual, 44 sujetos con prediabetes y un índice de masa corporal inicial de 25-35 kg/m² fueron aleatorizados para recibir suplementos de 30 g día⁻¹ de inulina o celulosa control durante 18 semanas. Los suplementos se administraron en sobres de 10 g tres veces al día con alimentos o bebidas. Ambos grupos perdieron aproximadamente el 5% de su peso corporal en la semana nueve, pero el grupo de inulina perdió significativamente más peso entre las 9 y 18 semanas. Aquellos sujetos que tomaban inulina tenían menor contenido de grasa hepática y del músculo sóleo a las 18 semanas en comparación con el control, incluso después de controlar la pérdida de peso. La glucosa en ayunas disminuyó significativamente en la semana nueve y las concentraciones de insulina no cambiaron.

2.3.3.6 La integración de inulina y otros prebióticos en la dieta de los organismos acuícolas.

A pesar de los posibles beneficios para la salud y el rendimiento que se observan en varios animales terrestres, el uso de prebióticos en la cría de peces y mariscos ha sido investigado en menor medida. Los estudios de prebióticos en organismos acuícolas por lo general evalúan el

efecto sobre el crecimiento, conversión alimenticia, microbiota intestinal, daño/morfología celular, resistencia contra bacterias patógenas y parámetros inmunes innatos como la actividad de lisozima, actividad natural de hemaglutinación, estallido respiratorio, actividad superóxido dismutasa y actividad fagocítica (Ringø et al., 2010).

Enciso Contreras (2016) elaboró dietas para *T. macdonaldi* con distintos prebióticos: inulina 1%, β -glucano 0.1% y quitosano 0.5%, administrándolas durante 56 días a tanques con 15 juveniles con un peso promedio de 58.8 g, dando como resultado un incremento en el porcentaje de cenizas del tejido muscular tratado con β -glucano. Por otro lado, se registró un aumento significativo en la digestibilidad de la dieta con inclusión de inulina asociado al incremento de las enzimas tripsina y lipasa.

González-Félix et al. (2018) reportaron que con inclusiones de 11×10^9 UFC/Kg y 2% de una combinación del probiótico Aquablend® con el prebiótico GroBiotic®-A, respectivamente, a la dieta de *T. macdonaldi* durante 109 días, varias especies de *Bacillus* logran colonizar exitosamente el tracto intestinal del pez y aunque no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento, debido al tamaño de los ejemplares o a que los bajos niveles de inclusión, se sabe que *Bacillus* mejora la actividad de enzimas digestivas, la respuesta del sistema inmunitario y la tasa de supervivencia.

Fuentes-Quesada et al. (2020), adicionaron agavina al 2% a dietas con inclusión de harina de soya para *T. macdonaldi* y tras alimentar 5 juveniles por tanque durante 44 días obtuvieron como resultado un mayor rendimiento en el crecimiento del pez y una contribución a revertir alteraciones histológicas provocadas por la harina de soya tanto en el intestino como en el hígado, pudiendo cambiar la estructura de la microbiota al promover el crecimiento de bacterias que tienen la capacidad de fijar el nitrógeno y de esta manera mejoran la relación de eficiencia de proteínas.

En un estudio realizado por Yones et al. (2020), se suplementó inulina a una dosis baja (0.25%) a la dieta de alevines del pez tilapia del nilo (*Oreochromis Niloticus*) durante 90 días, obteniendo mejoras en el rendimiento de crecimiento, así como en los índices inmunohematológicos y en la estructura del hígado y el bazo.

Li et al. (2020), reportaron que al incluir 0.2 y 0.4% de inulina a las dietas de postlarvas de camarón blanco del pacífico (*Litopenaeus vannamei*) durante 60 días en tanques con 35 ejemplares, se exhibe un peso final, una ganancia de peso y una tasa de crecimiento específica significativamente más altos que en los camarones alimentados con una dieta de control.

Además de presentar un índice hepatosomático significativamente reducido, la actividad de superóxido dismutasa de la amilasa intestinal y del hepatopáncreas en el grupo de inulina al 0.4% fue mayor que en el grupo de control; las actividades de fosfatasa ácida y fenol oxidasa del hepatopáncreas aumentaron significativamente en el grupo de inulina al 0.2 y al 0.4%, respectivamente y en estas mismas dietas los camarones redujeron el estrés oxidativo del hepatopáncreas aumentando la actividad de la catalasa y disminuyendo el contenido de malondialdehído .

Hunt et al. (2019) alimentaron durante 60 días a tanques con 15 ejemplares de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) con dietas que contenían 1 y 2% de inulina. Al final del estudio, se observó la tasa de supervivencia y rendimiento de crecimiento más elevados en los peces alimentados con el grupo de inulina 1%, además de que en este grupo también se observó una actividad de las enzimas digestivas significativamente más alta, principalmente en pepsina. La actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y catalasa en el tejido hepático fue generalmente mayor en las dietas suplementadas con inulina que en el grupo de control y significativamente mayor en el grupo de inulina al 1%.

3. METODOLOGÍA

3.1. Diseño y elaboración de dietas experimentales

Se formularon 6 dietas isoproteicas e isolipídicas con dos niveles de inclusión (0.25 y 0.5%) para el complejo Quercetina/Epicatequina (QEPIB y QEPIA, respectivamente) y un nivel para la Inulina (2%). La dieta control (DC) fue diseñada para satisfacer los requerimientos nutricionales de la especie. La principal fuente de proteína fue harina de pescado y en menor medida se adicionaron harina de soya, trigo y maíz. En la tabla 1 se describe el contenido de los ingredientes.

Las dietas fueron elaboradas en el Laboratorio de Nutrición Acuícola de la FCM de la UABC. Todos los ingredientes fueron pesados en una balanza Sartorius CP224S y los ingredientes secos se homogenizaron en una mezcladora Kitchen Aid para posteriormente adicionarles el aceite de pescado + vitamina E, la grenetina y el almidón (los dos últimos previamente hidratados con agua caliente). La masa resultante fue extruida para obtener pellets de alrededor de 3 mm. Finalmente, los pellets fueron sometidos a un secado de 65°C durante 24 h en una estufa de vacío Lindberg/Blue. Una vez terminada la elaboración de las dietas, estas fueron almacenadas en bolsas de plástico a una temperatura de -20°C hasta su posterior utilización.

Tabla 2. Composición de los ingredientes totales de las dietas experimentales (g 100 g⁻¹ dieta para *Totoaba macdonaldi*.

	DC	FSN	Q-EPI(A)	Q-EPI(B)	FSN/Q-EPI(A)	FSN/Q-EPI(B)
Ingrediente g/100 g	%					
Harina de pescado	60.60	60.60	60.60	60.60	60.60	60.60
Proteína de soya	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Fibra soluble de nopal	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	2.00
Quercetina	0.00	0.00	0.50	0.25	0.50	0.25
Epicatequina	0.00	0.00	0.50	0.25	0.50	0.25
Celulosa	3.00	1.00	2.00	2.50	0.00	0.50
Grenetina	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Almidón	6.80	6.80	6.80	6.80	6.80	6.80
Harina trigo	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Harina maíz	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
Aceite de pescado	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90
Mezcla minerales y vitaminas	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Vitamina C	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamina E	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Taurina	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lisina	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Metionina	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Ascorbato mono-P (35%)	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

DC: Dieta Control; FSN: Dieta fibra soluble de nopal 2%; Q-EPI(A): Dieta quercetina y epicatequina en concentración alta 0.5%; Q-EPI(B): Dieta quercetina y epicatequina en concentración baja 0.25%; FSN/Q-EPI(A): Dieta fibra soluble de nopal 2% con quercetina y epicatequina en concentración alta 0.5%; FSN/Q-EPI(B): Dieta fibra soluble de nopal 2% con quercetina y epicatequina en concentración baja 0.25%.

3.2. Condiciones de cultivo

Los ejemplares de *Totoaba macdonaldi* fueron provistos por la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la FCM de la UABC y 360 juveniles con un peso inicial de 21.1 ± 0.1 fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de 20 organismos en 18 tanques experimentales de aproximadamente 100 L, por lo que cada tratamiento tuvo 3 réplicas. Los peces fueron alimentados con una dieta comercial hasta el comienzo del experimento, el cual tuvo una duración de 56 días efectivos. Fueron alimentados dos veces al día (9:00 y 17:00) a saciedad aparente.

Todos los tanques fueron abastecidos con agua de mar recirculada continua, con aireación y flujo de agua constante. La temperatura y el oxígeno fueron monitoreados con un oxímetro antes de cada alimentación. La temperatura se mantuvo a $23.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ con la ayuda de un chiller, y la concentración de oxígeno se mantuvo a $5.64 \pm 0.76 \text{ mg L}^{-1}$. El fotoperíodo se mantuvo en un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h y los compuestos nitrogenados se mantuvieron a niveles dentro de los límites recomendados para especies marinas, siendo medidos diariamente con un kit API®. Se recurrió a la técnica de sifoneo de los tanques dos veces al día para asegurar la limpieza de los mismos.

3.3. Biometrías y Muestreo

Para registrar la longitud y peso a lo largo del experimento, se realizó una biometría al inicio, mitad y final del experimento. Finalmente se llevó a cabo un muestreo para la obtención de tejido muscular, visceral, hepático y sanguíneo para su posterior análisis. Los organismos fueron sometidos a 24 h de ayuno previas y con el fin de facilitar su manipulación y de reducir el efecto del estrés, fueron anestesiados con una solución acuosa de aceite de clavo con etanol (1:9).

Para el muestreo, se tomaron tres peces de cada tanque y se les extrajo músculo, hígado y vísceras, además se tomaron tres peces enteros para llevar a cabo los análisis de composición proximal de lípidos, proteínas, humedad y cenizas y se almacenaron a -20°C .

El pescado entero y el peso del hígado y vísceras de estos peces se utilizaron para la determinación de los índices hepatosomático y viscerosomático. Para los análisis sanguíneos, los peces fueron privados de alimento durante 12 horas y se recolectaron muestras individuales de sangre de 8 peces cada tanque por punción cardíaca usando jeringas de insulina que contenían 0.1 ml de solución anticoagulante EDTA.

3.4. Análisis hematológico y bioquímica sanguínea

Inmediatamente después de la recolección sanguínea, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de nutrición acuícola para su procesamiento y análisis para determinar el porcentaje de hematocrito (HT) y la concentración de hemoglobina (Hb). Con el resto de plasma colectado se realizaron determinaciones de proteínas totales, albúmina, triglicéridos, colesterol y glucosa.

El hematocrito (HT, %) fue determinado por el método de micro hematocrito, para lo cual las muestras de sangre fueron centrifugadas 10,000 rpm por 5 min y se tomaron las lecturas.

3.5. Cálculos

Para determinar el rendimiento del crecimiento de los peces se obtuvieron los siguientes parámetros:

% Supervivencia:

$$(\# \text{ final de peces} / \# \text{ inicial de peces}) * 100$$

Ganancia de peso:

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

Ganancia de peso relativa (%):

$$[(\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}) / \text{Peso inicial}] * 100$$

Ganancia de peso diaria (g):

$$\text{Ganancia de peso} / \# \text{ días}$$

Índice de crecimiento diario (%):

$$[(\text{Peso final}^{1/3} - \text{Peso inicial}^{1/3}) / \text{días}] * 100$$

Consumo de alimento diario (g):

$$\text{Consumo de alimento (g)} * \# \text{ peces} * \# \text{ días}$$

Consumo de alimento diario (%/día):

$$[(\text{Consumo de alimento por pez (g)} / (\text{Peso inicial (g)} + \text{Peso final (g)} / 2) / \# \text{ días}) * 100$$

Tasa de crecimiento térmico:

$$[(\text{Peso final}^{1/3} \text{ (g)} - \text{Peso inicial}^{1/3} \text{ (g)}) / (\sum T \text{ }^{\circ}\text{C} * \text{días})] * 100$$

Tasa de conversión alimenticia:

$$\text{Alimento consumido (g)} / \text{Ganancia de peso (g)}$$

Tasa de eficiencia proteica:

$$\text{Ganancia de peso (g)} / \text{Proteína consumida (g)}$$

Factor de condición K:

$$(\text{Peso final (g)} / \text{talla final (cm)}) * 100$$

Índice hepatosomático:

$$(\text{Peso hígado (g)} / \text{peso pez (g)}) * 100$$

Índice víscerosomático:

$$(\text{Peso vísceras (g)} / \text{peso pez (g)}) * 100$$

3.6. Análisis proximales de unidades experimentales y tejidos

Se analizó el contenido químico proximal de las dietas, tejidos y organismos enteros. Para el contenido de proteína total, se obtuvo la concentración de nitrógeno total por medio del método Kjeldahl (Folch, 1957) y el resultado se multiplicó por la constante 6.25 ($N \times 6.25$). El contenido de humedad y cenizas se obtuvieron de acuerdo con las especificaciones de la AOAC (2000). El contenido de lípidos se determinó gravimétricamente mediante la extracción los solventes orgánicos diclorometano:metanol (2:1), de acuerdo una metodología modificada de Folch et al.

(1957). El contenido de almidón en dietas fue determinado utilizando un estándar de almidón con un kit de glucosa por medio del método de Plummer (1987).

3.7. Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SimgaPlot 12.5 para Windows. Se realizaron comparaciones entre tratamientos empleando el método de análisis de varianza de una vía (ANOVA). Las diferencias significativas entre los tratamientos se determinaron mediante la prueba Holm-Sidak ($p < 0.05$). A los datos que no cumplieron con la homogeneidad de varianza se les aplicó la prueba de Tukey. Los resultados obtenidos fueron reportados como media $\pm$ desviación estándar. Los valores expresados como porcentaje se transformaron con la función arcoseno y se evaluó la distribución normal y la homogeneidad de varianzas. Los datos que no cumplieron con la distribución de normalidad fueron analizados utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

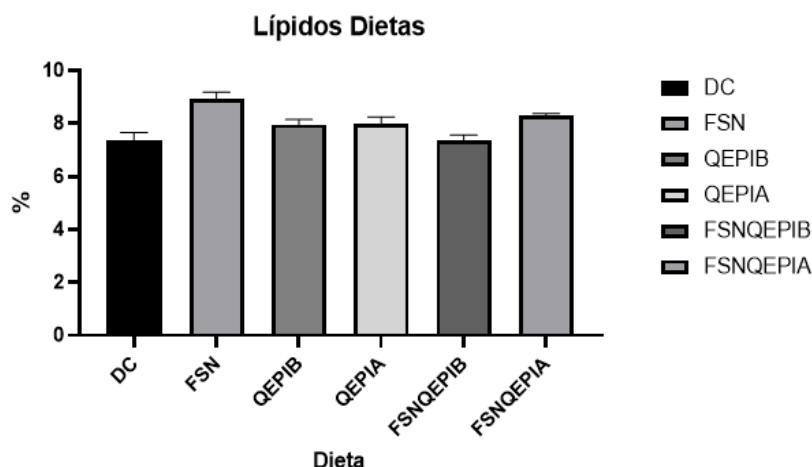
4.1. Análisis proximal de unidades experimentales

No se encontraron diferencias significativas en los análisis proximales de las dietas experimentales respecto a la dieta control, tal y como se esperaba, debido a que todas las dietas fueron elaboradas para ser isolipídicas e isoproteicas, a excepción de la incorporación de inulina y/o flavonoides. Al ser la inulina un carbohidrato no digerible, es posible que representara un ligero aumento en los resultados del análisis proximal de almidón de las dietas; por otro lado, los flavonoides son considerados micronutrientes sin ningún tipo de aporte energético.

A continuación, se muestran los resultados de cada uno de estos análisis:

En la gráfica 1 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de lípidos en las dietas experimentales (% peso seco), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

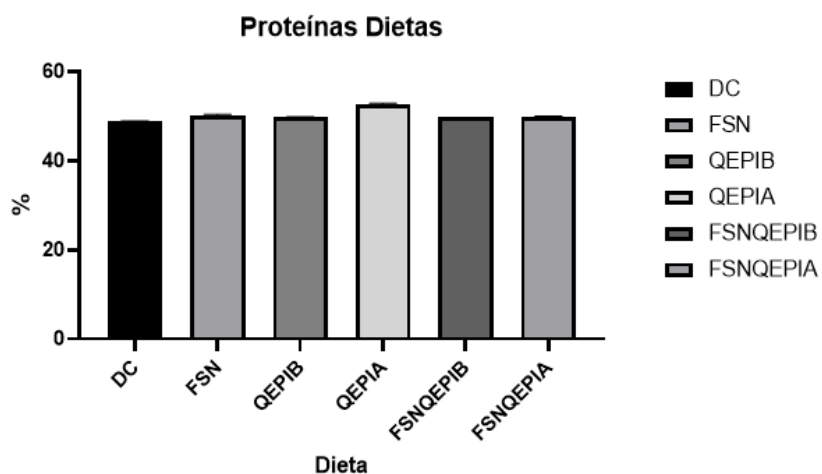
Gráfica 1. Análisis proximal de lípidos en dietas



La inclusión de lípidos fue de $7.99\% \pm 0.60$, lo cual contrasta con las dietas elaboradas por López et al. (2015) para juveniles de *Totoaba macdonaldi*, que fueron diseñadas para sustituir la harina de pescado por CPS en concentraciones del 30% y 60%, dando como resultado para la composición proximal de los lípidos valores del 12.3% y 12.2% respectivamente, así como del 12.6% para la dieta control. En el presente estudio la sustitución de CPS fue del 10%. Gatlin (2002) menciona que en las dietas para corvina roja (*Sciaenops ocellatus*), un miembro de la misma familia de la Totoaba, si los lípidos son proporcionados como aceites de peces marinos, pueden incluirse del 7-11% y resultar en valores adecuados de crecimiento y supervivencia. De tal forma que la inclusión de lípidos a la dieta del pez se encontró dentro del rango aceptado.

En la gráfica 2 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de proteínas en las dietas experimentales (% peso seco), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

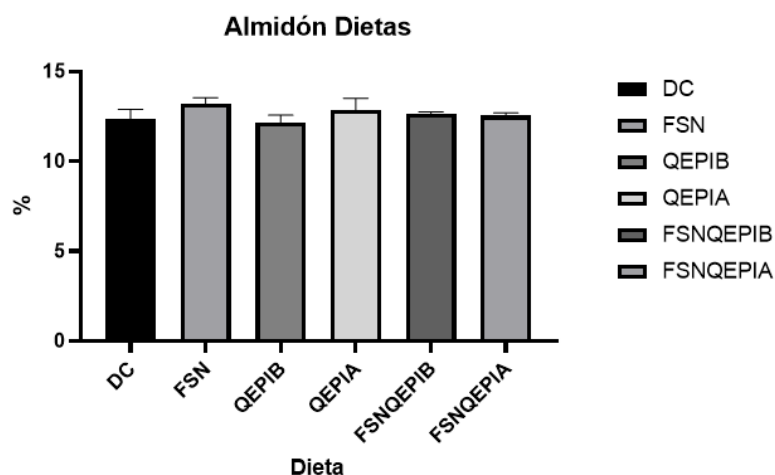
Gráfica 2. Análisis proximal de proteínas en dietas



La inclusión proteica fue de $50.2\% \pm 1.33$, encontrándose de esta manera dentro del rango en la elaboración de dietas para *Totoaba macdonaldi* y especies pertenecientes a la misma familia, ya que como se ha mencionado anteriormente, se trata de peces carnívoros cuya principal fuente de energía son las proteínas (López et al, 2015; True, 2012; Rueda-López et al., 2011).

En la gráfica 3 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de almidón en las dietas experimentales (% peso seco), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

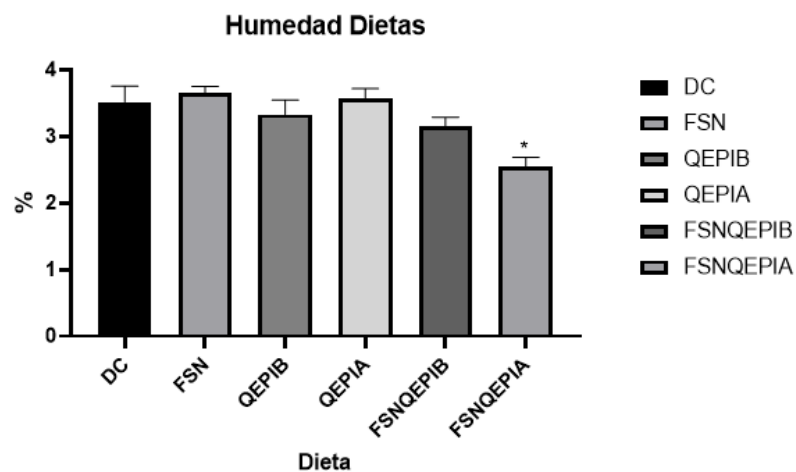
Gráfica 3. Análisis proximal de almidón en dietas



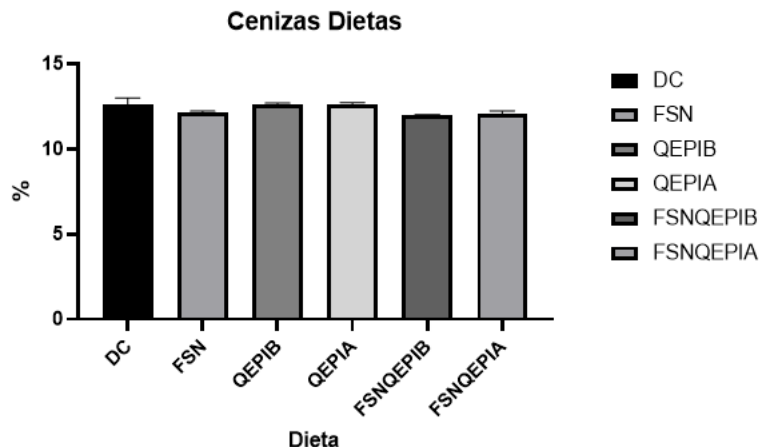
La composición proximal de almidón en las dietas (12.6 ± 0.36) se observa ligeramente superior, si se compara con la dieta control elaborada por López et al. (2015), con un 9.8%; incluso en ese mismo experimento las dietas con inclusiones elevadas de CPS (60%) presentan 10.5% de almidón. Por otro lado, True (2012) menciona que para juveniles de *T. macdonaldi* se pueden elaborar dietas cuya composición contenga entre 5 y 15% de almidón. Trejo Escamilla (2016) utilizó 13.8% para dieta control y 13.6% para dieta con CPS al 15% de *T. macdonaldi*. Por lo que la composición proximal de almidón se encuentra dentro de los datos aceptables para esta especie.

En la Gráficas 4 y 5 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de humedad y ceniza en las dietas experimentales (% peso seco), respectivamente, sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

Gráfica 4. Análisis proximal de humedad en dietas



Gráfica 5. Análisis proximal de cenizas en dietas



4.2. Cálculos asociados al rendimiento general del pez

La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos tras realizar los cálculos referentes al crecimiento y desempeño general del pez, de acuerdo con la dieta administrada.

Tabla 3. Rendimiento del pez de acuerdo con dieta experimental.

Dieta	DC	FSN	Q-EPI(B)	Q-EPI(A)	FSN/Q-EPI(B)	FSN/Q-EPI(A)
Peso inicial (g)	20.9 ± 0.2	21.2 ± 0.1	21.1 ± 0.2	21.1 ± 0.1	21.1 ± 0.1	21.1 ± 0.04
Peso final (g)	125.1 ± 9.7 ^a	124.3 ± 6.9 ^{ab}	131.0 ± 6.7 ^b	124.5 ± 5.9 ^{ab}	123.2 ± 3.5 ^{ab}	121.7 ± 6.4 ^{ab}
Talla inicial (cm)	12.4 ± 0.3	12.6 ± 0.2	12.5 ± 0.2	12.4 ± 0.2	12.4 ± 0.2	12.3 ± 0.3
Talla final (cm)	21.45 ± 0.5 ^a	21.74 ± 0.5 ^b	22.12 ± 0.1 ^b	21.29 ± 0.4 ^{ab}	21.49 ± 0.5 ^{ab}	21.39 ± 0.4 ^{ab}
Supervivencia %	96.57 ± 5.77 ^a	98.33 ± 2.89 ^{ab}	100 ± 0.00 ^b	95.00 ± 8.66 ^{ab}	96.67 ± 2.89 ^{ab}	100 ± 0.00 ^b
Ganancia de peso (g)	98.65 ± 3.23 ^a	101.03 ± 5.43 ^b	111.78 ± 4.70 ^c	107.62 ± 1.67 ^b	103.05 ± 2.06 ^b	101.27 ± 1.81 ^b
Ganancia de peso relativa (%)	469 ± 11.11 ^a	476 ± 24.51 ^{ab}	529 ± 18.58 ^c	511 ± 6.33 ^b	487 ± 7.45 ^b	478 ± 8.06 ^b
Ganancia de peso diaria	1.76 ± 0.06 ^a	1.80 ± 0.10 ^b	2.00 ± 0.08 ^b	1.92 ± 0.03 ^b	1.84 ± 0.04 ^b	1.81 ± 0.03 ^b
ICD	3.78 ± 0.07 ^a	3.83 ± 0.13 ^b	4.08 ± 0.10 ^b	3.99 ± 0.03 ^b	3.88 ± 0.04 ^b	3.84 ± 0.04 ^b
Consumo diario de alimento (g)	1.97 ± 0.46 ^b	1.98 ± 0.23 ^{ab}	1.81 ± 0.16 ^{ab}	1.87 ± 0.24 ^{ab}	1.71 ± 0.11 ^a	1.98 ± 0.46 ^{ab}
CDA (%/día)	1.08 ± 0.01 ^a	1.23 ± 0.10 ^b	1.05 ± 0.10 ^{ab}	1.12 ± 0.15 ^{ab}	1.05 ± 0.08 ^{ab}	1.23 ± 0.28 ^b
TCA	1.73 ± 0.02 ^a	1.96 ± 0.12 ^b	1.62 ± 0.16 ^{ab}	1.74 ± 0.25 ^{ab}	1.66 ± 0.13 ^{ab}	1.95 ± 0.43 ^b
TEP	2.02 ± 0.07 ^a	2.01 ± 0.11 ^{ab}	2.12 ± 0.09 ^b	2.16 ± 0.03 ^b	2.07 ± 0.04 ^b	2.03 ± 0.04 ^{ab}
TCT	1.94 ± 0.06 ^a	1.99 ± 0.11 ^b	2.20 ± 0.03 ^b	2.12 ± 0.03 ^b	2.03 ± 0.04 ^b	2.00 ± 0.04 ^b
Factor K	1.26 ± 0.00 ^b	1.19 ± 0.03 ^a	1.23 ± 0.05 ^a	1.33 ± 0.05 ^c	1.23 ± 0.09 ^a	1.25 ± 0.05 ^a
IHS	0.86 ± 0.07 ^c	0.92 ± 0.22 ^d	0.74 ± 0.24 ^a	0.77 ± 0.02 ^b	0.87 ± 0.04 ^c	0.78 ± 0.12 ^{ab}
IVS	3.21 ± 0.58 ^b	3.03 ± 0.56 ^a	3.09 ± 0.42 ^{ab}	3.37 ± 0.72 ^{ab}	2.98 ± 0.09 ^a	2.89 ± 0.39 ^a

Consumo de alimento diario (%/día): CDA, Tasa de conversión alimenticia (TCA), Tasa de Eficiencia proteica (TEP), Tasa de crecimiento térmico (TCT), Factor de condición K, Índice hepatosomático, Índice víscerosomático. DC: Dieta Control; FSN: Dieta fibra soluble de nopal 2%; Q-EPI(A): Dieta quercetina y epicatequina en concentración alta 0.5%; Q-EPI(B): Dieta

quercetina y epicatequina en concentración baja 0.25%; FSN/Q-EPI(A): Dieta fibra soluble de nopal 2% con quercetina y epicatequina en concentración alta 0.5%; FSN/Q-EPI(B): Dieta fibra soluble de nopal 2% con quercetina y epicatequina en concentración baja 0.25%.

Una vez transcurridos los 56 días del bioensayo, la supervivencia fue mayor de $95\% \pm 8.66$ sin que este parámetro se viese afectado por las dietas experimentales. Las dietas que lograron una supervivencia absoluta fueron QEPIB y FSNQEPIA ($P < 0.05$). Respecto al peso final, todas las dietas mostraron similitud con DC (125.1 ± 9.7), a excepción de la dieta QEPIB que mostró un valor de 131.0 ± 6.7 ($P < 0.05$). Todas las dietas experimentales mostraron ganancia de peso y ganancia de peso diaria con valores significativamente superiores a DC ($P < 0.05$), siendo QEPIB la dieta con los valores más altos (111.78 ± 4.70 y 2.00 ± 0.08 , respectivamente). El índice de crecimiento diario mostró un incremento significativo ($P < 0.05$) en todas las dietas frente a DC (3.78 ± 0.07) siendo QEPIB donde se presentaron los mayores valores (4.08 ± 0.10). En cuanto al consumo diario de alimento (%), los peces alimentados con FSNQEPIB y QEPIB obtuvieron los valores más bajos (1.05 ± 0.08 y 1.05 ± 0.10 , respectivamente), aunque sin reflejar una diferencia estadísticamente significativa. No obstante, al haber obtenido ganancias de peso elevadas con un menor consumo, estos últimos tratamientos proyectaron las mejores tasas de conversión alimenticia, con valores de 1.62 ± 0.16 para QEPIB y 1.66 ± 0.13 para FSNQEPIB a pesar de no representar una diferencia significativa por medio de análisis estadísticos frente al 1.73 ± 0.02 obtenido en DC. Aunque no se observan marcadas diferencias entre las tasas de eficiencia proteica, estadísticamente las que mostraron valores más elevados con respecto a DC (2.02 ± 0.07) fueron QEPIB, QEPIA y FSNQEPIB con valores de 2.12 ± 0.09 , 2.16 ± 0.03 y 2.07 ± 0.04 , respectivamente ($P < 0.05$). Todas las dietas mostraron una tasa de crecimiento térmico superior a DC (1.94 ± 0.06) siendo QEPIB aquella con los valores más elevados (2.20 ± 0.03) ($P < 0.05$). El factor de condición K para DC fue de 1.26 ± 0.00 , todas las dietas mostraron cifras menores a excepción de QEPIA que obtuvo resultados de 1.33 ± 0.05 ($P < 0.05$). El índice hepatosomático fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en FSN con respecto al resto de las dietas, en tanto que los índices viscerosomáticos para FSNQEPIB y FSNQEPIA mostraron los valores más bajos (2.98 ± 0.09 y 2.89 ± 0.39 , respectivamente).

A pesar de que se encuentran ciertas diferencias entre dietas en algunos parámetros, por lo general los valores no presentan grandes fluctuaciones y se encuentran dentro de los rangos aceptados para *Totoaba macdonaldi*. Rueda-López et al. (2011) elaboraron 6 dietas con tres niveles de proteína y dos niveles de lípidos (44, 48 y 52% para proteína; 8.5 y 18% para lípidos), donde el mayor porcentaje de ganancia de peso fue de $590.7\% \pm 24.3$ con la dieta que incluía

52% de proteína y 8.5% de lípidos y el menor fue de $149.3\% \pm 15.7$ con la dieta que incluía 43% de proteína y 19% de lípidos; en este trabajo, las dietas fueron isolipídicas e isoproteicas ($7.99\% \pm 0.60$ y $50.2\% \pm 1.33$, respectivamente) donde el menor porcentaje de ganancia de peso se dio en DC con $469\% \pm 11.11$ y los mayores en las dietas que contenían los flavonoides a concentraciones alta y baja es decir, QEPIB y QEPIA, con $529\% \pm 18.58$ y $511\% \pm 6.33$, respectivamente. Además, QEPIB mostró el valor más alto del índice de crecimiento diario con valores de 4.08 ± 0.10 , lo cual supera los resultados obtenidos por López et al. (2015), quienes elaboraron dietas con inclusiones de concentrado proteico de soya dieta, obteniendo 3.42 para la dieta control y 3.59 como valor más alto. Es probable que esta diferencia se deba a que los autores manejaron una inclusión de lípidos del 12% y de concentrado proteico de soya del 30% y 60%, mientras en el presente trabajo fueron del 8% y 10%, respectivamente y tal como mencionan Rueda-López et al. (2011), cuando aumentan los niveles de lípidos y decrece la calidad de la proteína en las dietas de peces carnívoros se observa una disminución en el rendimiento del pez. Abdel-Tawwab et al. (2010) administraron a la dieta de alevines de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) durante 12 semanas hojas de la planta de té verde (*Camellia sinensis*), las cuales contienen como principios activos epicatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina y galato de epigallocatequina, a una concentración de 0.5 g Kg^{-1} de dieta, teniendo como resultado una optimización del crecimiento, tasa de conversión alimenticia y contenido proteico. Cho et al. (2007) adicionaron 5% de extracto de té verde a la dieta de la platija juvenil de olivo (*Paralichthys olivaceus*) durante 7 semanas y obtuvieron como resultado una mejora en el peso y las tasas de conversión alimenticia y de eficiencia proteica, así como una reducción en el colesterol del tipo LDL atribuidos a la presencia de las catequinas en este compuesto. Xu et al. (2019) incluyeron quercetina en dietas para carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) y tras 60 días de bioensayo, la suplementación de 0.4 g Kg^{-1} mejoró significativamente la ganancia de peso y disminuyó la tasa de conversión alimenticia. Lo anterior concuerda con la reducida tasa de conversión alimenticia obtenida en la dieta de este trabajo QEPIB (1.62 ± 0.16), lo cual se traduce en una dieta más eficiente debido a que el pez necesita consumir menos alimento para obtener una mayor ganancia de peso (Muin et al., 2017; Castro et al., 2021). Las tasas de eficiencia proteica obtenidas en el presente trabajo se encuentran dentro del rango de valores que se han reportado en *Totoaba macdonaldi* por diversos autores, el valor mínimo obtenido fue de 2.02 ± 0.07 en DC y el máximo de 2.16 ± 0.03 en QEPIA. En el trabajo de Trejo Escamilla (2016), donde se elaboraron dietas con distintas inclusiones de CPS, el valor más bajo lo obtuvo DC con 2.4 ± 0.05 , y los valores más elevados los obtuvieron las inclusiones de CPS del 15% y 30% (2.5 ± 0.08 y 2.5 ± 0.09 , respectivamente) y a medida que

fueron aumentado estas inclusiones, se observó una disminución de tal forma que en la dieta con 100% de CPS la tasa de eficiencia proteica fue de 2.1 ± 0.07 . López et al. (2006) obtuvieron valores de 2.48 para dieta control y 2.81 para dietas con inclusiones del 30% de CPS. Fuentes-Quesada et al. (2020) elaboraron dietas que contenían harina de pescado, harina de productos derivados de ave, harina de soya y 2% de agavina, un carbohidrato ramificado obtenido de la planta del tequila (*Agave tequilana*), consiguiendo los valores de eficiencia proteica más elevados en la dieta con agavina (2.36 ± 0.07) frente al valor más bajo obtenido en la dieta control (2.29 ± 0.02); los autores sugirieron que la microbiota podría estar participando en la fijación del nitrógeno, favoreciendo así el incremento de este parámetro. Lo anterior podría asociarse al resultado obtenido en la dieta FSNQEPIB del presente proyecto, que contenía un 2% de inulina, obteniendo un valor de 2.07 ± 0.04 , ligeramente mayor a DC. Por otro lado, Minjarez-Osorio et al. (2012) elaboraron 3 dietas con distintas inclusiones de proteína cruda (47% 52% y 55%) y obtuvieron valores de 1.0 ± 0.2 , 1.2 ± 0.2 y 1.2 ± 0.2 , respectivamente. El valor máximo reportado por Rueda-López et al. (2011) fue de 1.1 ± 0.2 en la dieta con inclusión alta de proteína (52%) y baja de lípidos (8%) y el valor más bajo fue de 0.7 ± 0.1 en la dieta con inclusión baja de proteína (43%) y baja de lípidos; dado que la tasa de eficiencia proteica refleja la calidad de la fuente proteica que se está utilizando, es probable que estos últimos resultados se deban a que los autores incluyeron harina de baja calidad en el primer caso y de soya en el segundo, que a diferencia de la harina de pescado de alta calidad o del CPS (concentrado proteico de soya), puede presentar un menor porcentaje de aminoácidos esenciales, energía y minerales (Singh et al., 2008).

El factor de condición o factor K se utiliza para comparar la condición o bienestar de un pez o población, con el fundamento de que los peces que presentan un mayor peso, a determinada longitud, presentarán una mejor condición (Froese, 2006). En ese sentido, los peces alimentados con el tratamiento QEPIA presentaron una mejor condición (1.33 ± 0.05) ($P < 0.05$) que el resto de las dietas, incluso que DC (1.26 ± 0.00). En el estudio realizado por Fuentes-Quesada et al. (2020), donde utilizaron inclusiones del 2% de agavina en dietas con harina de subproductos avícolas y harina de soya, las dietas control y con inclusión de agavina presentaron los valores de K más elevados (1.61 ± 0.05 y 1.63 ± 0.09 , respectivamente); las dietas sin agavina presentaron valores de 1.50 ± 0.05 y 1.51 ± 0.03 , donde la dieta que incluía harina de soya presentaba una evidente enteritis y como consecuencia, un rendimiento más pobre. Et al observaron en dietas para *T. macdonaldi* que a inclusiones proteicas del 47%, 52% y 55%, la eficiencia proteica presentaba valores de 1.0 ± 0.2 , 1.2 ± 0.2 y 1.2 ± 0.2 , respectivamente, frente a una dieta comercial con una inclusión de proteína de 38% y eficiencia proteica de 2.7 ± 1.2 .

El índice hepatosomático (IHS) es un indicador de la energía de reserva, así como del buen funcionamiento del hígado. Este, junto con el índice viscerosomático (IVS), tienen un papel importante en el metabolismo de los peces, al estar relacionados con la digestión y absorción, síntesis y secreción de enzimas digestivas, así como con el metabolismo de los carbohidratos (Ighweka et al., 2014). Perez-Velazquez et al., (2016) al incorporar 8% de lípidos a la dieta de *T. macdonaldi* obtuvieron valores para IHS de 0.72 ± 0.27 y para IVS de 2.66 ± 0.52 ; en el presente trabajo, en el cual la inclusión de lípidos en todas las dietas fue de $7.99\% \pm 0.60$, la dieta que más se aproximó a esa tendencia en IHS fue QEPIB con 0.74 ± 0.24 y en IVS fueron las dietas FSNQEPIB y FSNQEPIA con valores de 2.98 ± 0.09 y 2.89 ± 0.39 , respectivamente; estos últimos fueron los más bajos dentro del parámetro de IVS. Curiosamente, valores en IHS más elevados fueron aquellos donde está presente la fibra soluble (FSN 0.92 ± 0.22), lo cual puede que se deba a la acción de la microbiota a nivel intestinal que aprovecha esta fibra y tal vez una parte de este incremento dietario de carbohidratos se dirige a ser acumulado en el hígado, tal como sugieren Ahmad et al. (2012). Fuentes-Quesada et al. (2020) con su incorporación de 2% de agavina a las dietas de *T. macdonaldi* obtuvieron un mayor IHS que incluía un incremento de la altura del borde de cepillo del intestino y un mayor porcentaje de pliegues mucosos con un mayor grosor en la mucosa subepitelial, esto por acción de las enzimas exógenas producidas por las bacterias que son estimuladas por los oligosacáridos de las dietas. Por efectos de tiempo no fue posible realizar un análisis histológico de tejido hepático y visceral en el presente proyecto, sin embargo, su futura realización podría esclarecer la acción de los flavonoides y/o inulina sobre estos tejidos.

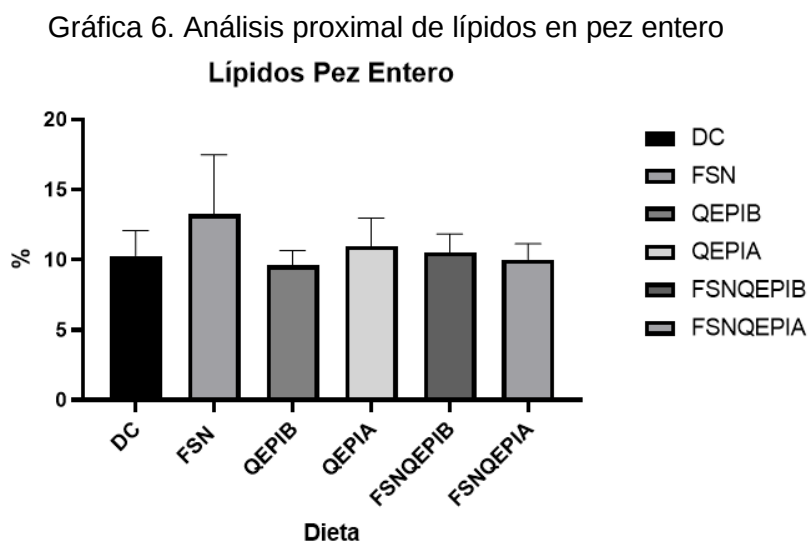
Por lo anterior, se puede afirmar que los compuestos bioactivos utilizados en el presente proyecto no ejercen un efecto negativo sobre el rendimiento general del pez. Sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos, la dieta que resulta ser más prometedora para optimizar el rendimiento y metabolismo del pez es QEPIB ya que obtuvo una mayor ganancia de peso y eficiencia proteica con un menor consumo de alimento.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos tanto de análisis proximal de tejidos como de parámetros bioquímicos de peces alimentados con los distintos tratamientos experimentales. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de dichos análisis a pesar de que se esperaba observar un mejoramiento por parte de los compuestos bioactivos adicionados. Lo anterior puede deberse a los siguientes factores:

- El tratamiento control no ejerció un daño metabólico en el pez, ya que los compuestos utilizados son homeostáticos, mantienen regulados los parámetros metabólicos del organismo, por lo que no fue posible observar un efecto debido a que no se perdió la homeostasis del pez.
- El tiempo durante el cual se administraron los tratamientos y las concentraciones de los compuestos bioactivos no fueron suficientes para obtener diferencias significativas, por lo que se propone repetir el experimento por más tiempo y aumentar las concentraciones siempre y cuando se espere encontrar daño metabólico en el pez debido a la dieta control.

4.3. Análisis proximal de pez entero

En la gráfica 6 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de lípidos en pez entero (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

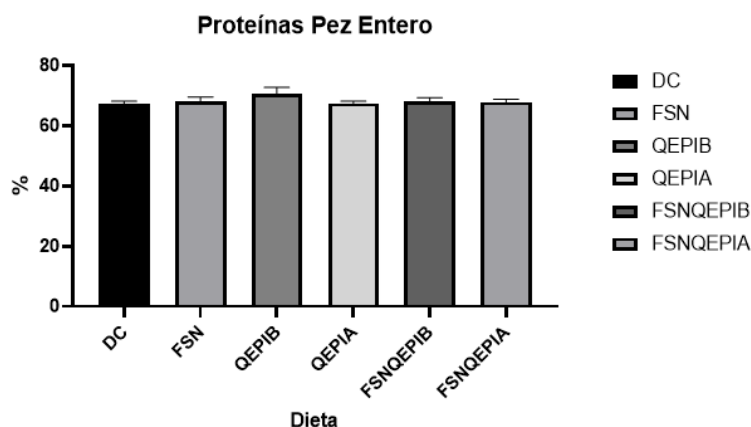


A pesar de la ausencia de diferencias significativas debido a los elevados valores de desviaciones estándar, la cifra más alta se pudo observar en FSN con 13.25 ± 4.2 y la más baja en QEPIB con 9.59 ± 1.07 . DC presentó valores de 11.32 ± 1.78 . Los valores obtenidos son menores a los reportados por López et al. (2015), quienes elaboraron dietas con distintas inclusiones de CPS y la dieta control tuvo como resultado 20.7, el valor mínimo fue observado en la dieta con inclusión de CPS de 30% (20.1) y el máximo en la dieta con inclusión de CPS de 60% (21). En este trabajo únicamente se adicionó un 10% de CPS y a pesar del alto grado de pureza que puede presentar esta fuente de proteína (>65%), es posible que contenga cierta

cantidad remanente de factores antinutricionales y carbohidratos que tras cierto porcentaje de inclusión a las dietas hagan evidente su presencia y aumente la cantidad de lípidos en los tejidos del organismo (Singh et al., 2008). Velarde Sánchez (2013) alimentó durante 68 días a juveniles de *T. macdonaldi* con dietas que contenían aceites de pescado, linaza y maíz; al finalizar el bioensayo la dieta control obtuvo 17.4 ± 0.87 en pez entero, siendo este el máximo valor, mientras que el mínimo lo obtuvo en una dieta que obtenía 30% de aceite de linaza y 10% de aceite de maíz (13.5 ± 0.98). Se puede concluir que los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la composición proximal de lípidos en el pez entero.

En la gráfica 7 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de proteínas en pez entero (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

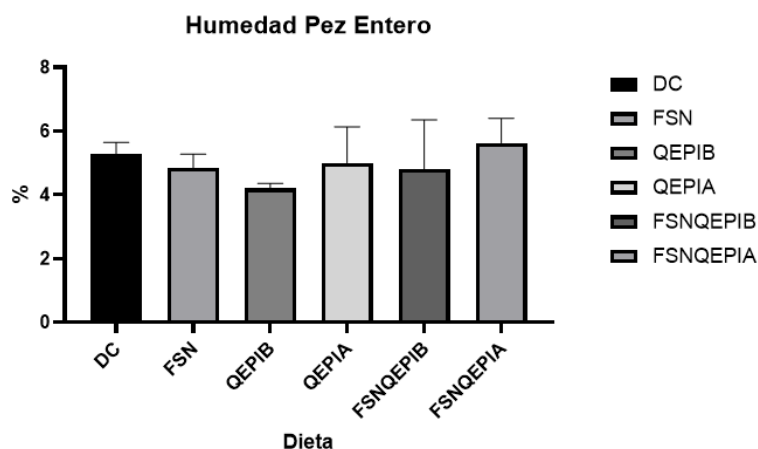
Gráfica 7. Análisis proximal de proteínas en pez entero



DC dio como resultado 67.32 ± 0.84 . Velarde Sánchez (2013) obtuvo valores de 74.9 ± 4.12 en la dieta control que elaboró para juveniles de *T. macdonaldi*. Vizcaíno Pérez (2008) elaboró dietas isoproteicas con distintos niveles de lípidos y aunque no incorporó una dieta control, la dieta con una inclusión de 8% de lípidos dio como resultado en las proteínas de pez entero un valor de 68.2 ± 0.37 , por lo que se puede concluir que los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en composición proximal de proteínas en el pez entero.

En la gráfica 8 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de humedad en pez entero (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

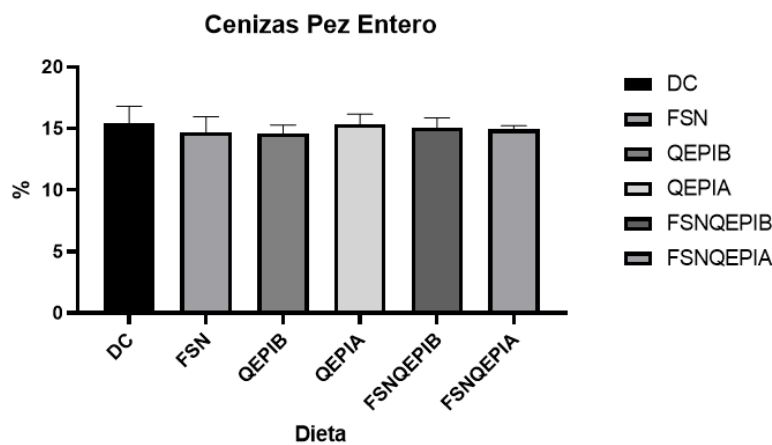
Gráfica 8. Análisis proximal de humedad en pez entero



La dieta control para este análisis presentó valores de 5.28 ± 0.37 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la humedad del pez entero.

En la gráfica 9 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de cenizas en pez entero (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

Gráfica 9. Análisis de cenizas en pez entero

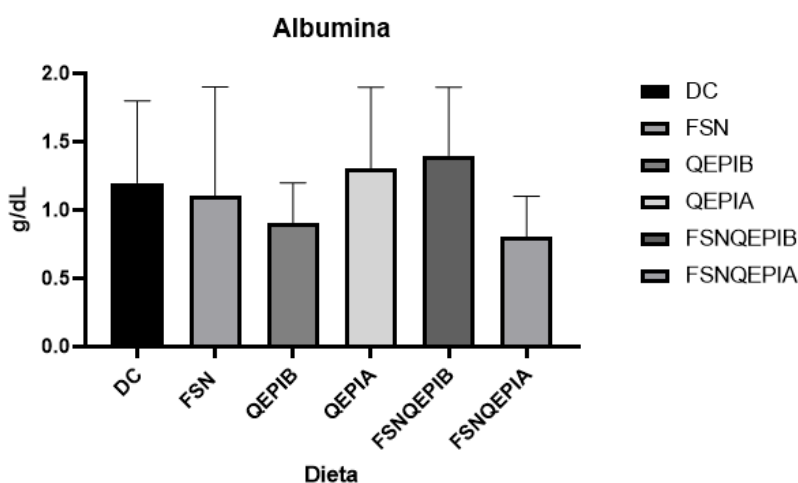


La dieta control para este análisis presentó valores de 15.45 ± 1.36 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en las cenizas en el pez entero.

4.4. Análisis sanguíneo

En la gráfica 10 se muestran resultados tras realizar el análisis de albúmina en sangre (g/dL), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

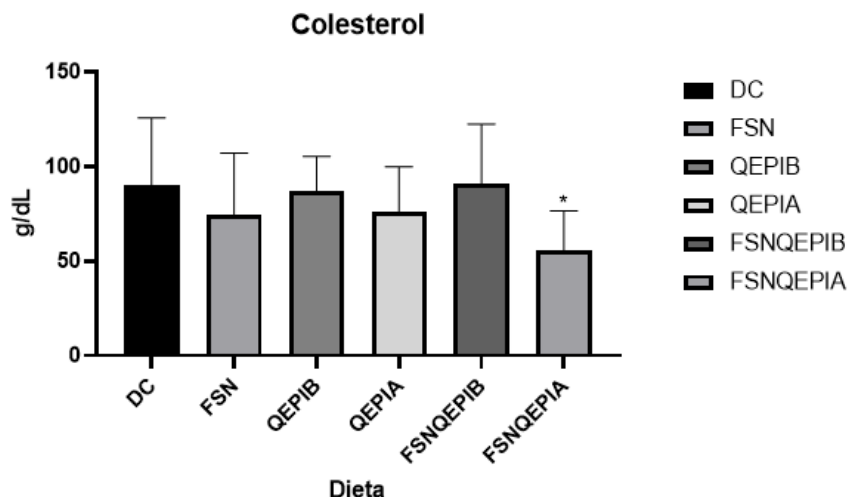
Gráfica 10. Albúmina en plasma de peces alimentados con distintas dietas



Al tratarse de una proteína que es sintetizada en hígado, puede ser indicadora de daño hepático cuando se encuentra en bajas concentraciones sanguíneas en los peces (Mehjbeen et al., 2017). En el presente estudio DC exhibió valores de 1.2 ± 0.6 y aunque estadísticamente no hubo diferencias con respecto a esta dieta, se puede observar una disminución en los tratamientos QEPIB y FSNQEPIA (0.9 ± 0.3 y 0.8 ± 0.3). Sin embargo, estos valores se encuentran dentro de los reportados para *T. macdonaldi*. López et al. (2015) obtuvieron para su dieta control valores 0.70, al igual que Trejo Escamilla (2016). Gullian-Klanian (2013) evaluó en corvina roja (*Sciaenops ocellatus*), una especie de la misma familia, el efecto en plasma de la aclimatación a largo plazo en agua dulce donde los grupos control obtuvieron valores 2.54 ± 0.75 . Por lo que los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en los niveles de albúmina del pez.

En la tabla 11 se muestran resultados tras realizar el análisis de colesterol en sangre (g/dL), con una disminución significativa en el tratamiento FSNQEPIA ($P < 0.05$):

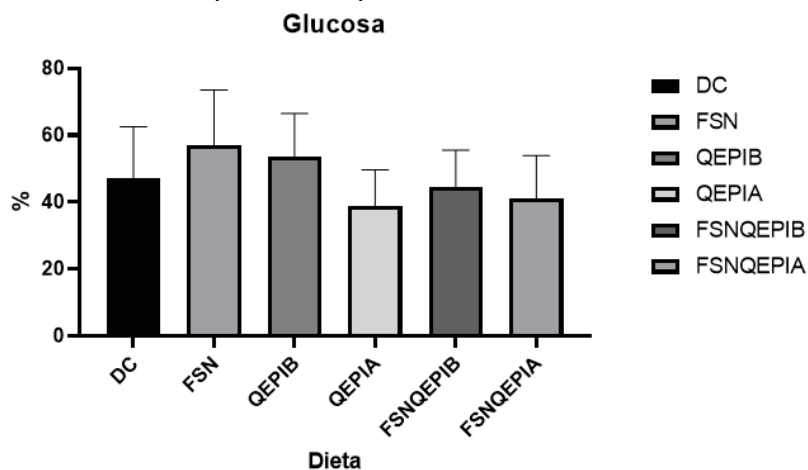
Gráfica 11. Colesterol en plasma de peces alimentados con distintas dietas



En este caso se aprecia que no hubo una gran fluctuación entre tratamientos, a excepción de FSNQEPIA, que obtuvo valores significativamente menores ($P < 0.05$) frente a DC (73.76 ± 29.38 y 86.09 ± 36.35 , respectivamente). Los elevados valores en las desviaciones estándar pueden deberse a la variabilidad que hubo entre las réplicas de los tratamientos.

En la gráfica 12 se muestran resultados tras realizar el análisis de glucosa en sangre (g/dL), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

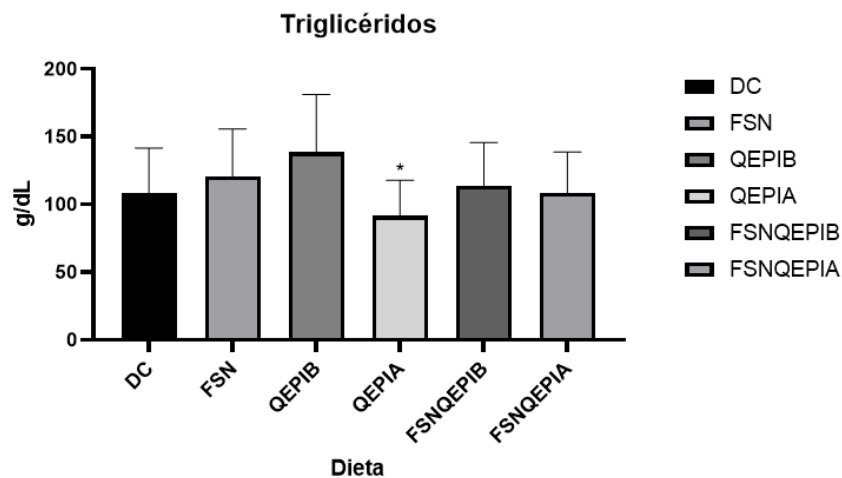
Gráfica 12. Glucosa en plasma de peces alimentados con distintas dietas



Los valores para DC fueron de 46.98 ± 15.57 . Esto coincide con la dieta control elaborada por Trejo Escamilla (2016), cuyos valores fueron de 48.6 ± 0.9 . Sin embargo, se encuentra por encima del valor reportado para este parámetro por López et al. (2015), que obtuvo 36.7 como resultado.

En la gráfica 13 se muestran resultados tras realizar el análisis de triglicéridos en sangre (g/dL), con una disminución significativa en el tratamiento QEPIA ($P < 0.05$):

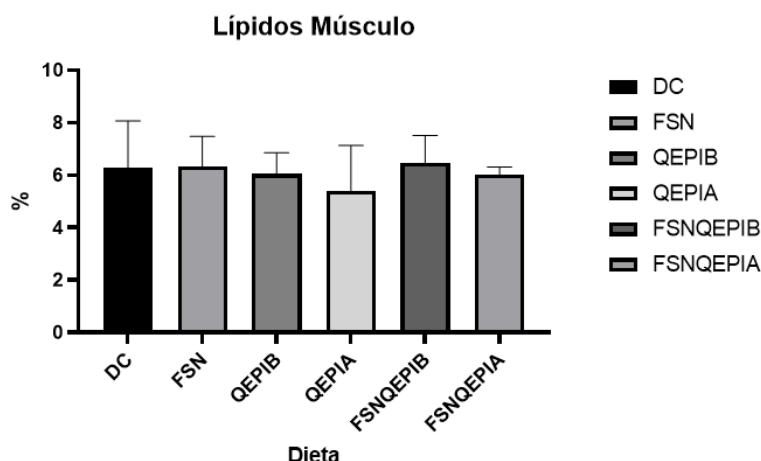
Gráfica 13. Triglicéridos en plasma de peces alimentados con distintas dietas



En este caso se aprecia que la cantidad de triglicéridos fue similar en todos los tratamientos y fue significativamente menor en QEPIA ($P < 0.05$) frente a DC, con valores de 91.42 ± 26.27 y 108.40 ± 33.10 , respectivamente. Por otro lado, QEPIB junto con las dietas FSN y FSNQEPIB mostraron valores elevados frente a DC (148.12 ± 43.10 , 120.68 ± 35.05 y 113.65 ± 31.98). Sin embargo, los elevados valores de las desviaciones estándar indican que estas diferencias se debieron a la variabilidad entre las réplicas de los tratamientos.

4.5. Análisis proximal de tejidos muscular, visceral y hepático En la gráfica 14 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de lípidos en pez en tejido muscular (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

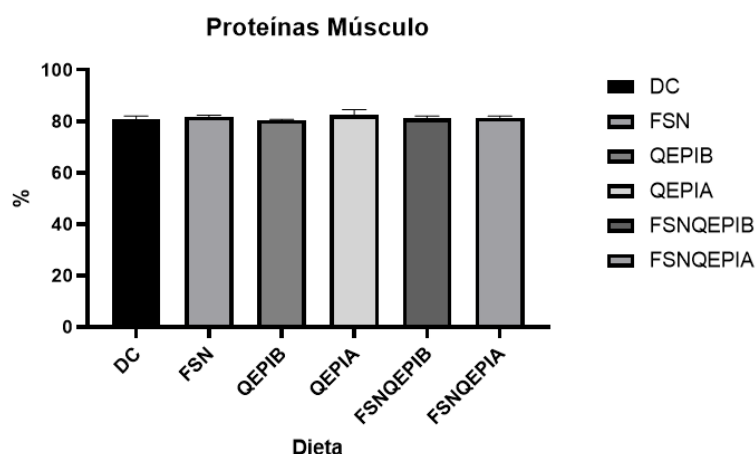
Gráfica 14. Análisis proximal de lípidos en músculo



Los valores observados para DC en este análisis fueron de 6.29 ± 1.77 . Al tratarse de un pez carnívoro, *T. macdonaldi* es una especie que retiene una poca cantidad de lípidos en músculo. Rueda-López et al. (2011), reportaron valores de 3.4 ± 0.3 en dietas elaboradas con 52% de proteína y 8% de lípidos. Velarde Sánchez (2013), quien utilizó inclusiones de aceites de pescado, maíz y linaza, reportó porcentajes del 3% al 5% en tejido muscular de *T. macdonaldi*. Vizcaíno Pérez (2008), obtuvo valores de 4.8 ± 0.11 en tejido muscular de peces alimentados con dietas que contenían 8% de lípidos. Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la composición proximal de lípidos en músculo.

En la gráfica 15 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de proteínas en tejido muscular (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

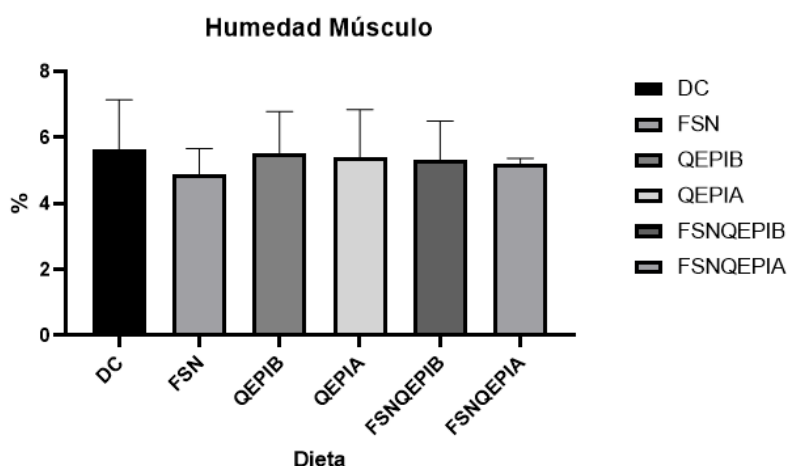
Gráfica 15. Análisis proximal de proteínas en músculo



En este análisis DC mostró valores de 80.75 ± 1.36 . Badillo Zapata et al. (2016) elaboraron dietas con distintas inclusiones de harina de subproductos de ave y alimentaron durante 86 días a juveniles de *T. macdonaldi*, obteniendo como resultado para las proteínas de músculo de los peces alimentados con dieta control, valores de 80.0 ± 1.2 sin mostrar diferencias significativas con el resto de las dietas. Rueda-López et al. (2011) obtuvieron como resultado valores de 85.0 ± 2.1 en dietas para *T. macdonaldi* con inclusiones del 52% de proteína y 8% de lípidos. Velarde Sánchez (2013) obtuvo en las proteínas musculares de los ejemplares de *T. macdonaldi* alimentados con su dieta control, valores de 87.0 ± 1.08 . Vizcaíno Pérez (008) obtuvo en su dieta adicionada con el 8% de lípidos, valores de 83.4 ± 0.05 para el tejido muscular de *T. macdonaldi*. Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la composición proximal de proteínas en músculo.

En la gráfica 16 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de humedad en tejido muscular (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

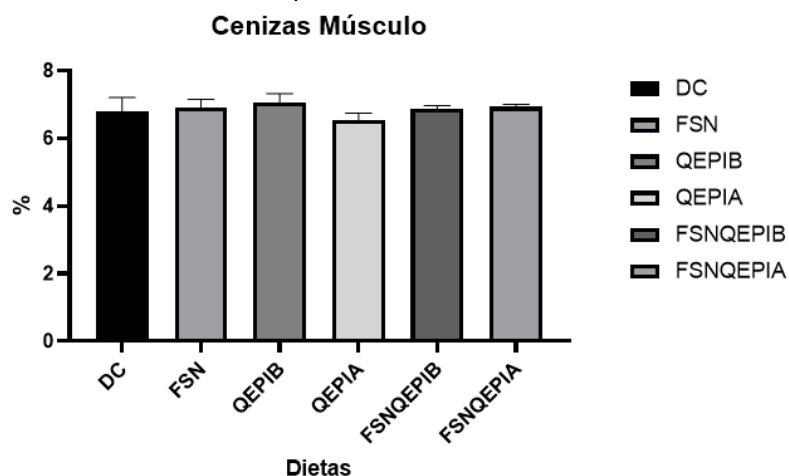
Gráfica 16. Análisis proximal de humedad en músculo



DC obtuvo como resultado para este análisis, 5.62 ± 1.53 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la humedad en músculo.

En la gráfica 17 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de cenizas en tejido muscular (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

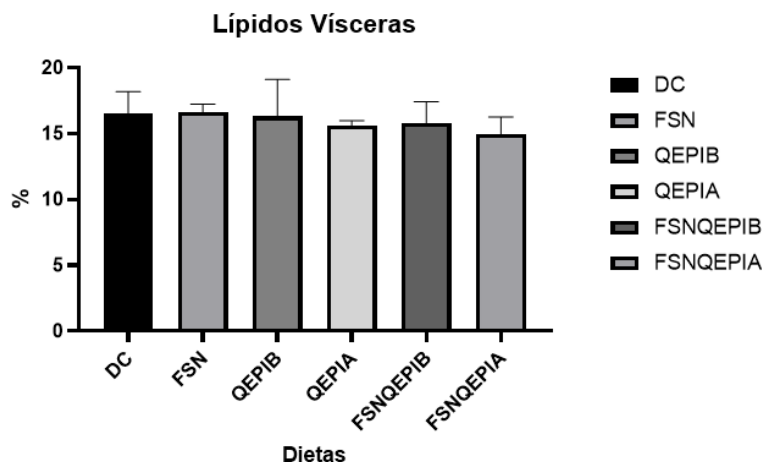
Gráfica 17. Análisis proximal de cenizas en músculo



DC obtuvo como resultado para este análisis valores de 6.80 ± 0.39 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en las cenizas en músculo.

En la gráfica 18 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de lípidos en tejido visceral (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

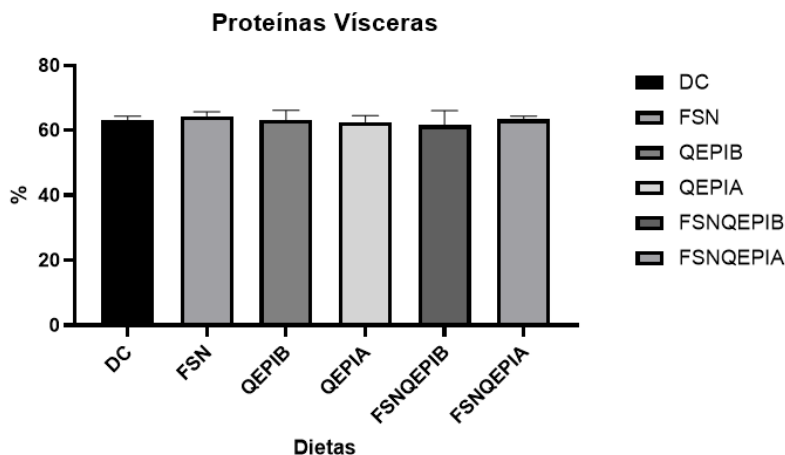
Gráfica 18. Análisis proximal de lípidos en vísceras



Para este análisis, DC mostró valores de 16.47 ± 1.70 . En este parámetro, Rueda-López et al. (2011) obtuvieron valores de 18.6 ± 1.8 en dietas con inclusiones del 52% de proteína y 8% de lípidos. Velarde Sánchez (2013) obtuvo para el parámetro de lípidos en vísceras de su dieta control, valores de 25.2 ± 1.79 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la composición proximal de lípidos en vísceras.

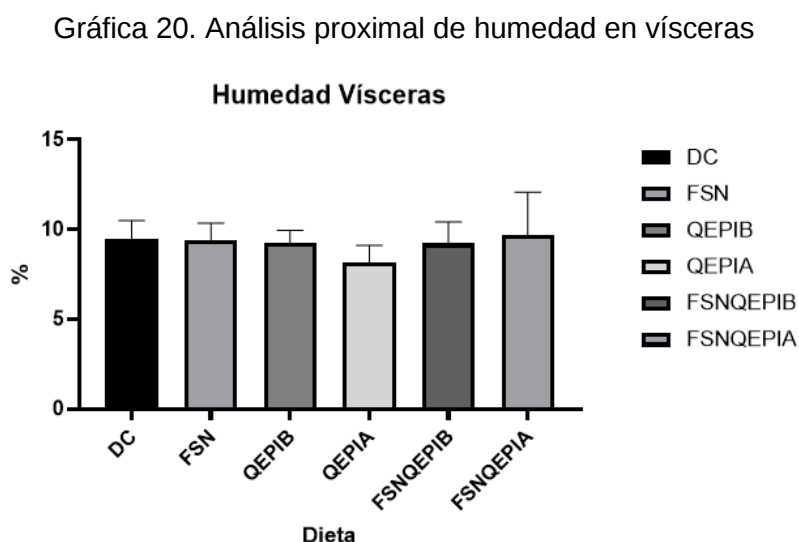
En la gráfica 19 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de proteínas en tejido visceral (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

Gráfica 19. Análisis proximal de proteínas en vísceras



Los valores obtenidos para DC fueron 63.12 ± 1.24 . Rueda-López et al. (2011) obtuvieron valores de 51.9 ± 1.3 en dietas con inclusiones de proteína del 52% y 8% de lípidos. Velarde Sánchez (2013) obtuvo para el parámetro de lípidos en vísceras de su dieta control, valores de 66.2 ± 2.38 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la composición proximal de proteínas en vísceras.

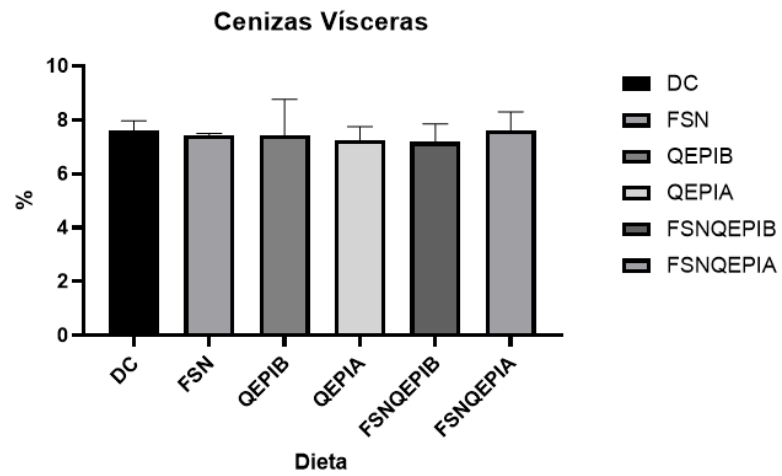
En la gráfica 20 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de humedad en tejido visceral (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:



Los valores obtenidos para DC fueron de 9.48 ± 1.01 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en la humedad en vísceras

En la gráfica 21 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de cenizas en tejido visceral (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

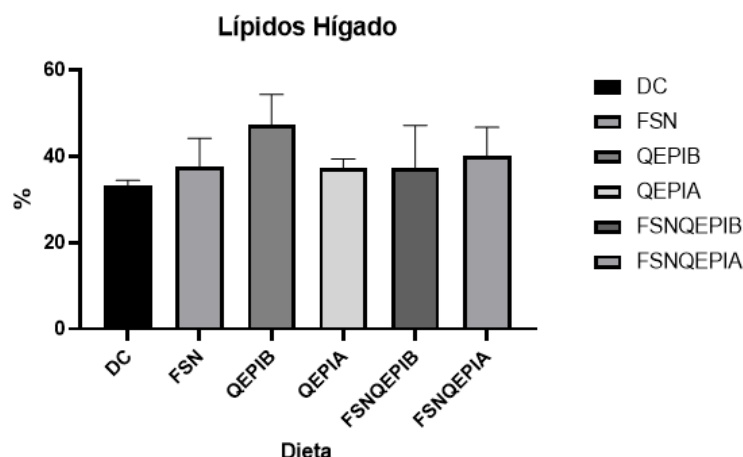
Gráfica 21. Análisis proximal de cenizas en vísceras



Los valores obtenidos para DC fueron de 7.59 ± 0.38 . Los compuestos bioactivos adicionados en el presente trabajo no ocasionaron un efecto negativo en las cenizas en vísceras.

En la gráfica 22 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de lípidos en tejido hepático (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

Gráfica 22. Análisis proximal de lípidos en hígado



A pesar de que estadísticamente no hubo diferencias significativas debido a las elevadas desviaciones estándar, se puede observar que hay una diferencia entre QEPIB frente a DC, con valores de 47.43 ± 6.90 y 33.23 ± 1.22 , respectivamente el resto de las dietas, FSN, QEPIA, FSNQEPIB y FSNQEPIA mostraron valores de 37.47 ± 6.68 , 37.27 ± 2.14 , 37.29 ± 9.89 y 40.23 ± 6.50 . Estos valores se encuentran por encima de los obtenidos por varios autores. Fuentes-Quesada et al. (2020), quienes como se ha mencionado anteriormente, utilizaron dietas para *T. macdonaldi* con inclusiones de harina de subproductos avícolas, harina de soya y 2% de agavina, y tras 44 días el valor máximo que obtuvieron fue para la dieta que únicamente contenía un reemplazo del 67% de harina de subproductos avícolas, el cual fue de $25.7\% \pm 4.4$, mientras el valor mínimo lo obtuvo la dieta a la que se le adicionó 2% de agavina con 21.6 ± 3.9 . La dieta control tuvo valores de 24.2 ± 2.8 . Trejo escamilla (2016) reportó para el análisis proximal de lípidos en hígado de *T. macdonaldi* en su dieta control, un resultado de 10.16 ± 0.41 . Vizcaíno Pérez (2008) en su trabajo con juveniles de *T. macdonaldi*, la dieta con inclusión del 8% de lípidos obtuvo como resultado valores de 25.4 ± 0.37 , mientras que las dietas que más se asemejaron a los resultados de este trabajo fueron las que incluyeron en su formulación 20% y 24% de lípidos, con valores de 38.6 ± 0.21 y 40.6 ± 0.17 , respectivamente

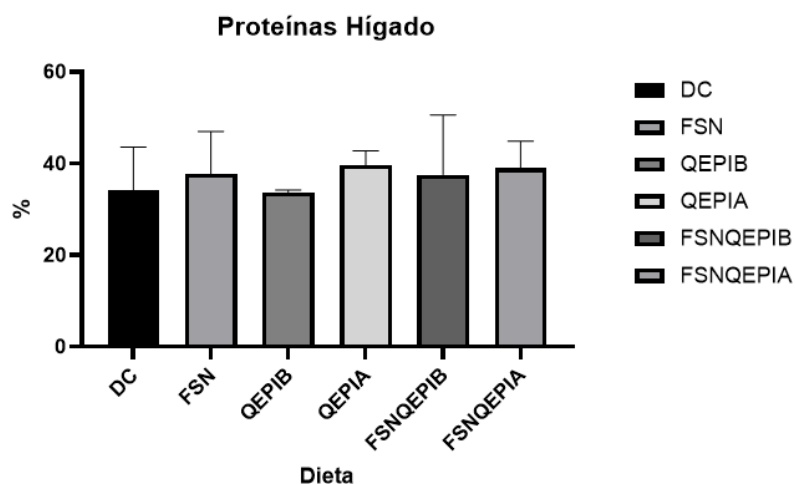
El aumento de lípidos en los peses puede deberse a cualquiera de los siguientes dos factores:

- 1) a la síntesis de *novo* a partir de carbonos no lipídicos o directamente de la dieta. Aunque el aumento de lípidos podría estar relacionado a efectos como disminución del rendimiento general del pez. En este caso no hubo un efecto ni en el rendimiento del pez, ni en otro parámetro

metabólico contemplado en el estudio. Se sugiere realizar más estudios, sobre el perfil de los lípidos encontrados, para determinar si su bioacumulación es dañina para el pez. Ya que como se ha reportado anteriormente es la composición lipídica la que puede tener un mayor impacto en el estado metabólico del pez (Mata-Sotres, 2021)

En la gráfica 23 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de proteínas en tejido hepático (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

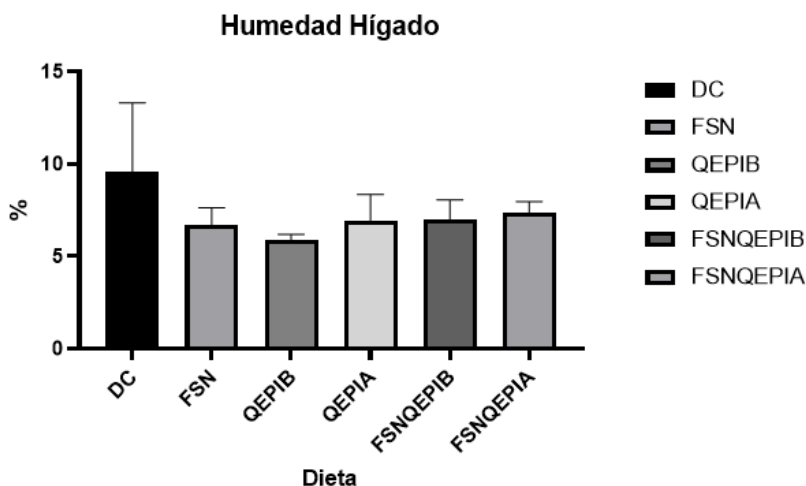
Gráfica 23. Análisis proximal de proteínas en hígado



Los valores obtenidos para DC fueron 34.19 ± 9.41 . Estos resultados contrastan con varios de los obtenidos por otros autores. Trejo Escamilla (2016) reportó valores de 12.26 ± 0.08 para su dieta control, mientras que Fuentes-Quesada et al. (2020), de manera similar, obtuvo 11.2 ± 1.6 . Por otro lado, Vizcaíno Pérez (2008) en su dieta elaborada con una inclusión de lípidos del 8% obtuvo como resultado valores de 57.1 ± 0.02 . Velarde Sánchez obtuvo los valores más similares a este proyecto en la composición proximal de proteínas en hígado con 32.1 ± 1.41 para su dieta control.

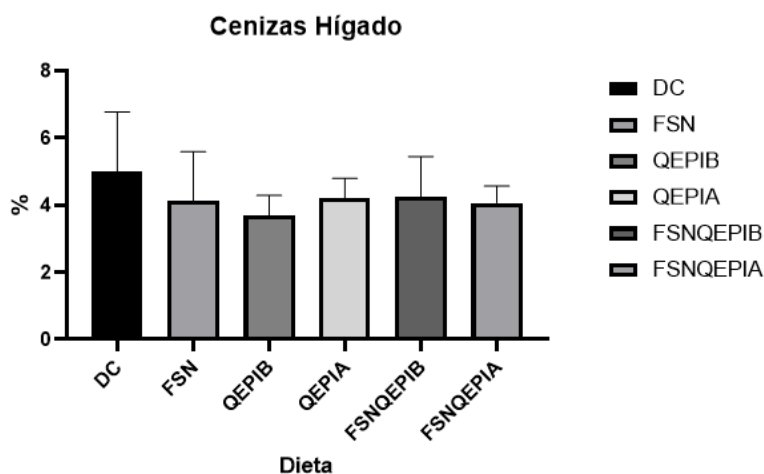
En la gráfica 24 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de humedad en tejido hepático (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

Gráfica 24. Análisis proximal de humedad en hígado



En la gráfica 25 se muestran resultados tras realizar el análisis proximal de cenizas en tejido hepático (% peso húmedo), sin obtener diferencias estadísticamente significativas:

Gráfica 25. Análisis proximal de cenizas en hígado



4.6. Análisis de actividad enzimática en intestino

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos de enzimas digestivas en cada dieta experimental administrada tras analizar porciones proximal y media de intestino del pez (mU/mg prot).

Tabla 4. Actividad de enzimas digestivas

Dieta	DC	FSN	Q-EPI(B)	Q-EPI(A)	FSN/Q-EPI(B)	FSN/Q-EPI(A)
Tripsina	51.70 ± 6.56 ^a	25.25 ± 1.01 ^{ab}	52.92 ± 7.67 ^a	11.97 ± 1.29 ^{bcd}	14.29 ± 1.96 ^{abcd}	19.03 ± 6.52 ^{abc}
Quimotripsina	0.19 ± 0.02	0.23 ± 0.06	0.27 ± 0.12	0.19 ± 0.02	0.24 ± 0.04	0.30 ± 0.02
Lipasa	0.02 ± 0.004	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.005	0.02 ± 0.008	0.02 ± 0.009	0.03 ± 0.006
Proteasas alcalinas	2061.57 ± 199.46 ^a	1398.78 ± 283.91 ^{bc}	1698.14 ± 257.76 ^{ab}	600.44 ± 10.53 ^{def}	624.50 ± 106.58 ^{de}	656.77 ± 30.74 ^d
Leucina aminopeptidasa	0.33 ± 0.08 ^b	0.28 ± 0.04 ^{abc}	0.13 ± 0.005 ^{acd}	0.25 ± 0.07 ^{abc}	0.29 ± 0.04 ^{abc}	0.36 ± 0.05 ^a

DC: Dieta Control; FSN: Dieta fibra soluble de nopal 2%; Q-EPI(A): Dieta quercetina y epicatequina en concentración alta 0.5%; Q-EPI(B): Dieta quercetina y epicatequina en concentración baja 0.25%; FSN/Q-EPI(A): Dieta fibra soluble de nopal 2% con quercetina y epicatequina en concentración alta 0.5%; FSN/Q-EPI(B): Dieta fibra soluble de nopal 2% con quercetina y epicatequina en concentración baja 0.25%.

Es posible observar cómo las distintas dietas experimentales tuvieron influencia sobre las enzimas tripsina, proteasa alcalinas y leucina aminopeptidasa, mientras que sobre las enzimas quimotripsina y lipasa no se observaron diferencias significativas.

Los valores más elevados para tripsina se observaron en DC y QEPIB con 51.70 ± 6.56 y 52.92 ± 7.67, respectivamente, mostrando diferencias significativas ($P < 0.05$) con las dietas QEPIA y FSNQEPIB que obtuvieron valores de 11.97 ± 1.29 y 14.29 ± 1.96, respectivamente. En cuanto a las proteasas alcalinas, al igual que la tripsina, se observaron los mayores resultados en DC y QEPIB, con valores de 2061.57 ± 199.46 y 1698.14 ± 257.76, respectivamente, mostrando una marcada diferencia ($P < 0.05$) con las dietas QEPIA, FSNQEPIB y FSNQEPIA, las cuales obtuvieron valores de 600.44 ± 10.53, 624.50 ± 106.58 y 656.77 ± 30.7, respectivamente. Por otro lado, la leucina aminopeptidasa exhibió una mayor actividad en las dietas FSNQEPIB y FSN, 0.29 ± 0.04 y 0.28 ± 0.04, respectivamente, mientras el valor más bajo se observó en la dieta QEPIB con valores de 0.13 ± 0.00.

Zhai y Liu (2014) administraron a grupos de tilapia (*Oreochromis niloticus*), dietas con inclusiones de 0, 200, 400, 800 y 1600 mg/kg de quercetina durante 49 días. Obtuvieron como resultado una mejora de los índices de ganancia de peso, conversión alimenticia e índice de eficiencia proteica en comparación con el grupo control. La actividad de proteasa, lipasa y amilasa en estómago e

intestino incrementó significativamente cuando las inclusiones de quercetina estuvieron por encima de 400 mg/kg y por otro lado, a inclusiones de 200 mg/kg se observó un efecto significativo en el crecimiento del pez. Shin et al. (2010), elaboraron dietas con inclusiones del 0.25 y 0.5% de quercetina para el falso halibut del japon (*Paralichthys olivaceus*), una especie carnívora, durante 60 días en respuesta a la toxicidad de cadmio y aunque no se evaluó la actividad de las enzimas digestivas, la dieta con mayores inclusiones del flavonoide tuvo un crecimiento significativamente mayor en comparación con las otras dietas, esto asociado a su actividad antioxidante. En el presente estudio, la dieta con inclusión de quercetina del 0.25% (2500 mg/kg, 12.5 veces la inclusión más baja del primer estudio mencionado) fue la que resultó en un mejor rendimiento del pez así como en mejores valores para la actividad de tripsina, quimotripsina, lipasa y proteasas alcalinas. Sin embargo, a mayores inclusiones de quercetina estos efectos dejaron de observarse. Zhang et al. (2021) realizaron un experimento de 56 días con ejemplares de pez cebra (*Danio rerio*) donde el rendimiento del crecimiento fue significativamente mayor en dietas que contenían 100 mg/kg de quercetina en contraste con otras dietas elaboradas, asociando este efecto a un incremento en la actividad de las enzimas digestivas intestinales así como a habilidades inmune y antioxidante en el pez. Xu et al. (2018) reportaron que con suplementaciones de 0.4 g/kg de quercetina a dietas de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) durante 60 días, se obtuvo una ganancia de peso significativamente mejorada con respecto a la dieta control con un descenso en la tasa de conversión alimenticia, lo cual se traduce en un mejor aprovechamiento del alimento por parte del pez. Mousavi et al. (2020) administraron extracto de semilla de uva a dietas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), el cual tras analizarse su contenido mediante HPLC se observó que un 43% correspondía a catequina y un 30% a epicatequina. Al finalizar el experimento de 60 días, este compuesto mostró efectos positivos en algunos parámetros del crecimiento incluyendo la tasa de crecimiento específico y el factor de condición, sugiriendo que pudieron asociarse a un incremento de la actividad de las enzimas digestivas y a un mejoramiento de la microbiota intestinal.

Al ser la dieta QEPIB la que mostró mayores valores en la mayoría de las enzimas en contraste con el resto de las dietas experimentales, esto explica la optimización en las tasas de eficiencia proteica y alimenticia, así como el índice de crecimiento diario que mostraron los peces alimentados con esta dieta, debido a que a mayor actividad enzimática, sobre todo de tripsina hay una mejor digestión y aprovechamiento de las proteínas provenientes del alimento (Lemieux et al., 1999; Rungruangsak-Torrissen, et al., 2006).

5. CONCLUSIONES

La dieta suplementada con flavonoides en concentración baja logro que el rendimiento general del pez fuera mayor. Esto significa que hubo un mayor aprovechamiento de la proteína en los peces que consumieron dicha dieta, lograron ganar más peso y mejorar de manera significativa sus parámetros de rendimiento. Ninguno de los tratamientos probados en el presente proyecto causó algún daño visible en los tejidos, parámetros bioquímicos o parámetros de rendimiento del pez. Sin embargo, se sugiere llevar a cabo análisis que profundicen en dar entendimiento de la respuesta metabólica del pez tras someterlo a las dietas experimentales del presente proyecto.

No se observaron diferencias significativas en la química y hematología sanguíneas de los peces alimentados con las dietas del presente proyecto. Tampoco se observaron diferencias significativas en los estudios proximales del pez entero y los órganos evaluados. Excepto que en el hígado se observó un porcentaje por arriba del parámetro normal del pez. Sin embargo, para poder determinar si este aumento tiene un efecto en el metabolismo del pez, debe realizarse el estudio de expresión diferencial de las enzimas involucradas en el metabolismo de lípidos.

Como trabajo a futuro, se sugiere que para seguir evaluando el efecto del prebiótico probado y los flavonoides se realice un estudio aumentando la cantidad de proteína de soya en la dieta, o la concentración de almidón en el mismo, para observar si dichos componentes pueden prevenir los efectos negativos que se han atribuido a la suplementación de la dieta de *Totoaba macdonaldi* con proteína de soya y/o con un aumento de concentración de almidón. Además, se sugiere realizar el estudio por un periodo de tiempo más grande y probar un rango mayor de concentraciones de flavonoides y prebiótico.

Se sugiere también realizar análisis más profundos y detallados para conocer el efecto metabólico que tuvo la adición de flavonoides y/o fibra de agave. Esto a través de un estudio de expresión diferencial de las principales enzimas involucradas en el metabolismo de lípidos principalmente y del aprovechamiento de carbohidratos. Este tipo de estudios podrían ayudar también a determinar el rango de dosis que sería mejor probar en una segunda etapa del proyecto.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Hamid, R., Rabia, M. K. y Newair E. F. (2016). Electrochemical behaviour of antioxidants: Part 2. Electrochemical oxidation mechanism of quercetin at glassy carbon electrode modified with multi-wall carbon nanotubes. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(3), 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.06.014>
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Jr., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V. y Williams, C. L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188–205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>
- Arai, S., Osawa, T., Ohigashi, H., Yoshikawa, M., Kaminogawa, S., Watanabe, M., Ogawa, T., Okubo, K., Watanabe, S., Nishino, H., Shinohara, K., Esashi, T. y Hirahara, T. (2001). A mainstay of functional food science in japan-history present status, and future outlook. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 65(1),1–13. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.1>
- Arvizu, J. y Chávez, H. (1972). Sinopsis sobre la biología de la totoaba, *Cynoscion Macdonaldi* (Gilbert, 1890). (No. 108). Food and Agricultural Organization (FAO) Fisheries Synopsis. <http://www.fao.org/3/ap920s/ap920s.pdf>
- Ayadi, M. A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M. y Attia, H. 2009. Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*, 30(1), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.01.003>
- Bacchetta, L., Maccioni, O., Martina, V., Bojórquez-Quintal, E., Persia, F., Procacci, S. y Zaza, F. (2019). Quality by design approach to optimize cladodes soluble fiber processing extraction in *Opuntia Ficus Indica* (L.) Miller. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8): 3627–3634. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03794-7>
- Badillo Zapata, D., Lazo, J. P., Herzka, S. Z. y Viana, M. T. (2016). The effect of substituting fishmeal with poultry by-product meal in diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles. *Aquaculture Research*, 47(6), 1778–1789. <https://doi.org/10.1111/are.12636>
- Bañuelos-Vargas, I., López, L.M., Pérez-Jiménez, A., y Peres, H. (2014). Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba Macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 170, 18–25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpb.2014.01.003>
- Beecher, G. R. (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of Nutrition*, 133(10), 3248S-3254S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.10.3248S>

Cárdenas, S. (2012). Biología y acuicultura de corvinas en el mundo. *AquaTIC*, (37), 1–13. ISSN: 1578-4541

Changing Markets Foundation y Compassion in world farming. (2019). *Until the Seas Run Dry: How Industrial Aquaculture Is Plundering the Oceans*. Revisado en enero de 2021 <http://changingmarkets.org/wp-content/uploads/2019/04/REPORT-WEB-UNTILL-THE-SEAS-DRY.pdf>.

Chávez-Santoscoy, R. A., Lazo-Vélez, M. A., Serna-Sáldivar, S. O., y Gutiérrez-Urbe, J. A. (2016). Delivery of flavonoids and saponins from black bean (*Phaseolus vulgaris*) seed coats incorporated into whole wheat bread. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 222. <https://doi.org/10.3390/ijms17020222>

Cheng, H., Xu, N., Zhao, W., Su, J., Liang, M., Xie, Z., Wu, X. y Li, Q. (2017). (-)-Epicatechin regulates blood lipids and attenuates hepatic steatosis in rats fed high-fat diet. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(11). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700303>

Chun, O. K., Chung, S. J. y Song, W. O. (2007). Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. *The Journal of Nutrition*, 137(5), 1244–1252. <https://doi.org/10.1093/jn/137.5.1244>

Cordero-Herrera, I., Martín, M. A., Fernández-Millán, E., Álvarez, C., Goya, L. y Ramos, S. (2015). Cocoa and cocoa flavanol epicatechin improve hepatic lipid metabolism in in vivo and in vitro models. Role of pkc ζ . *Journal of Functional Foods*, 17, 761–773. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.033>

Felix D'Mello, J. P., Duffus, C. M. y Duffus, J. H. (1991). *Toxic substances in crop plants*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. ISBN: 0-085186-863-0

DeVries, Jonathan W. et al. 2001. 46 Report of the Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of the American Association Of Cereal Chemists *The Definition of Dietary Fiber*.

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition. Chichester: John Wiley & Sons. ISBN:978-0-470-74168-9

Dmitrienko, S. G., Kudrinskaya, V. A. y Apyari, V. V. (2012). Methods of extraction, preconcentration, and determination of quercetin. *Journal of Analytical Chemistry*, 67(4), 299–311. <https://doi.org/10.1134/S106193481204003X>

Environmental investigation agency. (2019). *CITE's Last Chance to Save the Vaquita*. Recuperado de: <https://eia-international.org/press-releases/citess-last-chance-to-save-the-vaquita/>.

El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M. S., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B. y Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a

- source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19(9), 14879–14901. <https://doi.org/10.3390/molecules190914879>
- Enciso Contreras, S. I. (2016). Efecto de la suplementación en dieta de la inulina, el β glucano y el quitosano sobre la capacidad digestiva y la inmunidad no específica de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*). [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. Repositorio CICESE.
- Espinoza Acevedo, H. M. (2017). Reemplazo de la harina de pescado por concentrado de proteína de soya en dietas para juveniles de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) suplementadas con diferentes niveles de taurina. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California]. Catálogo cimarrón - UABC.
- Fraga, C. G. y Oteiza, P. I. (2011). Dietary flavonoids: role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(4), 813–823. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.002>
- Francis, G., Makkar, H. P. S y Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3–4), 197–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- Fuentes-Quesada, J.P., Viana, M.T., Rombenso, A.N., Guerrero-Rentería, Y., Nomura-Solís, M., Gomez-Calle, V., Lazo, J.P. y Mata-Sotres, J.A. (2018). Enteritis induction by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: effects on growth performance, digestive capacity, immune response and distal intestine integrity. *Aquaculture*, 495, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.025>
- Gatlin, D.M., III., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R. y Wurtele, E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6), 551–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K. y Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(Agosto 2017), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Goto, T., Lee, J.-Y., Teraminami, A., Kim, Y.-I., Hirai, S., Uemura, T., Inoue, H., Takahashi, N. y Kawada, T. (2011). Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α stimulates both differentiation and fatty acid oxidation in adipocytes. *Journal of Lipid Research*, 52(5), 873–884. <https://doi.org/doi:10.1194/jlr.M011320>

- Grube, B., Chong, P.-W., Lau, K.-Z. y Orzechowski, H.-D. (2013). A natural fiber complex reduces body weight in the overweight and obese: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Obesity*, 21(1), 58–64. <https://doi.org/10.1002/oby.20244>
- Gruse, J., Görs, S., Tuchscherer, A., Otten, W., Weitzel, J. M., Metges, C. C., Wolframm, S. y Hammon, H. M. (2015). The effects of oral quercetin supplementation on splanchnic glucose metabolism in 1-week-old calves depend on diet after birth. *The Journal of Nutrition*, 145(11), 2486–2495. <https://doi.org/10.3945/jn.115.218271>
- Gu, C., Pan, H., Sun, Z. y Qin, G. (2010). Effect of soybean variety on anti-nutritional factors content, and growth performance and nutrients metabolism in rat. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(3), 1048–1056. <https://doi.org/10.3390/ijms11031048>
- Gunness, P. y Gidley, M. J. (2010). Mechanisms underlying the cholesterol-lowering properties of soluble dietary fibre polysaccharides. *Food and Function*, 1(2), 149–155. <https://doi.org/10.1039/C0FO00080A>
- Gutiérrez-Salmeán, G., Ortiz-Vilchis, P., Vacaseydel, C. M., Rubio-Gayosso, I., Meaney, E., Villarreal, F., Ramírez-Sánchez, I. y Ceballos, G. (2014). Acute effects of an oral supplement of (-)-epicatechin on postprandial fat and carbohydrate metabolism in normal and overweight subjects. *Food and Function*, 5(3), 521–527. <https://doi.org/10.1039/C3FO60416K>
- Halver, J.E. y Hardy, R.W. (2002). *Fish Nutrition*. (3a ed). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-319652-1.X5000-9>
- Hastings, P. A., Walker, H. J., Jr. y Galland, G. R. (2014). *Fishes: A guide to their diversity*. Oakland: Univeristy of California Press. ISBN 978-0-520-95933-0
- Heckel, G., Ruiz Mar, M.G., Schramm, Y. y Gorter, U. (2018). Atlas de distribución y abundancia de mamíferos marinos en México. San Francisco de Campeche: Universidad Autónoma de Campeche. <https://cemioceano.mx/downloads/libros/Atlas-distribucion-Mamiferos-Marinos.pdf>
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., y Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P. y Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: a review. *Food Chemistry*, 173, 501–513. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>
- Herman, E. M. y Schmidt, M. A. (2016). The potential for engineering enhanced functional-feed soybeans for sustainable aquaculture feed. *Frontiers in Plant Science*, 7(440). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00440>

- Hoek-van den Hil, E. F., Keijer, J., Bunschoten, A., Vervoot, J. J. M., Stankova, B., Bekkenkamp, M., Herreman, L., Venema, D., Hollman, P. C. H., Tvrzicka, E., Rietjens, I. M. C. M., van Schothorst, E. M. (2013). Quercetin induces hepatic lipid omega-oxidation and lowers serum lipid levels in mice. *PLoS ONE*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/annotation/53e96376-38fe-40e7-b73a-60e7232cef0e>
- Jaramillo-Legorreta, A., Cardenas-Hinojosa, G., Nieto-Garcia, E., Rojas-Bracho, L., Ver Hoef, J., Moore, J., Tregenza, N., Barlow, J., Gerrodette, T., Thomas, L. y Taylor, B. (2017). Passive acoustic monitoring of the decline of Mexico's critically endangered vaquita. *Conservation Biology*, 31(1). <https://doi.org/10.1111/cobi.12789>
- Juarez, L. M., Konietzko P.A., y Schwarz, M.H. (2016). Totoaba Aquaculture and Conservation: Hope for an endangered fish from Mexico ' s Sea of Cortez. *World Aquaculture Society* 47(4), 30–38. <https://www.aquaculturealliance.org/wp-content/uploads/2017/06/Juarez-WAM-Dec.-2016.pdf>
- Jung, C. H., Cho, I., Ahn, J., Jeon, T.-I. y Ha, T.-Y. (2013). Quercetin Reduces high-fat diet-induced fat accumulation in the liver by regulating lipid metabolism genes. *Phytotherapy Research*, 27(1), 139–143. <https://doi.org/10.1002/ptr.4687>
- Kale, A., Pişkin, Ö., Baş, Y., Aydın, B. G., Can, M., Elmas, Ö. y Büyükuysal, Ç. (2018). Neuroprotective effects of quercetin on radiation-induced brain injury in rats. *Journal of Radiation Research*, 59(4), 404–410. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry032>
- Kang, J.-W., Shin, J.-K., Koh, E.-J., Ryu, H., Kim, H. J. y Lee, S.-M. (2016). *Opuntia ficus-indica* seed attenuates hepatic steatosis and promotes m2 macrophage polarization in high-fat diet-fed mice. *Nutrition Research*, 36(4), 369–379. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2015.12.007>
- Kesbiç, O. S. y Yigit, M. (2019). Structural and chemical changes of grape seed extract after thermal processing and its use in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) diets as an organic feed supplement. *Aquaculture*, 503, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.021>
- Kokou, F. y Fountoulaki, E. (2018). Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. *Aquaculture*, 495, 295–310. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.003>
- Krogdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S. y Bakke, A.M. (2010). Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture Research*, 41(3), 333–344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02426.x>
- Kuo, S.-M. (2013). The interplay between fiber and the intestinal microbiome in the inflammatory response. *Advances in Nutrition*, 4(1), 16–28. <https://doi.org/10.3945/an.112.003046>

- Lakhanpal, P. y Rai, D. K. (2007). Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), 20-35. <https://doi.org/10.4314/ijmu.v2i2.39851>
- Lattimer, J. M. y Haub, M.D. (2010). Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2(12), 1266–1289. <https://doi.org/10.3390/nu2121266>
- Lee, E.-R., Kang, G.-H. y Cho, S.-G. (2007). Effect of flavonoids on human health: old subjects but new challenges. *Recent Patents on Biotechnology*, 1(2), 139–150. <https://doi.org/10.2174/187220807780809445>
- Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., Orčić, D. y Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods*, 40, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.047>
- Li, A.-N., Li, S., Zhang, Y.-J., Xu, X.-R., Chen, Y.-M. y Li, H.-B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12): 6020–6047. <https://doi.org/10.3390/nu6126020>
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., Liu, H. y Yin, Y. (2016). Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*, 8(3), 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>
- Li, Z., Jiang, H., Xu, C. y Gu, L. (2015). A review: using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals. *Food Hydrocolloids*, 43, 153–164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.010>
- Lin, J. y Zhou, W. (2018). Role of quercetin in the physicochemical properties, antioxidant and antiglycation activities of bread. *Journal of Functional Foods*, 40, 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.018>
- Linarès, E., Thimonier, C. y Degre, M. (2007). The effect of neopuntia® on blood lipid parameters - risk factors for the metabolic syndrome (syndrome x). *Advances in Therapy*, 24(5), 1115–1125. <https://doi.org/10.1007/BF02877717>
- López, L. M., Flores-Ibarra, M., Bañuelos-Vargas, I., Galaviz, M. A. y True, C. D. (2015). Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(4), 921–936. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0058-5>
- Lovatto, N. De M., Goulart, F. R., Loureiro, B. B., Adorian, T. J., de Freitas, S. T., Pianesso, D., Dalcin, M. O., Athayde, M. L. y da Silva, L. P. (2017). Effects of phosphorylated protein concentrate of pumpkin seed meal on growth and digestive enzymes activity of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Nutrition*, 23(1), 201–209. <https://doi.org/10.1111/anu.12381>

- Lu, J., Wu, D.-m., Zheng, Y.-l., Hu, B., Zhang, Z.-f., Shan, Q., Zheng, Z.-h., Liu, C.-m. y Wang, Y.-j. (2010). Quercetin activates amp-activated protein kinase by reducing pp2c expression protecting old mouse brain against high cholesterol-induced neurotoxicity. *The Journal of Pathology*, 222(2), 199–212. <https://doi.org/10.1002/path.2754>
- Madrid, J., Pohlenz, C., Viana, M.T. y Lazo, J.P. (2019). Dietary lysine requirement for juvenile, Totoaba Macdonaldi. *Aquaculture*, 500, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.003>
- Mahomoodally, M. F., Gurib-Fakim, A. y Subratty, A. H. (2005). Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of mauritius. *Pharmaceutical Biology*, 43(3), 237–242. <https://doi.org/10.1080/13880200590928825>
- Malcorps, W., Kok, B., van't Land, M., Fritz, M., van Doren, D., Servin, K., van der Heijden, P., Palmer, R., Auchterlonie, N.A., Rietkerk, M., Santos, M.J. y Davies, S.J. (2019). The sustainability conundrum of fishmeal substitution by plant ingredients in shrimp feeds. *Sustainability*, 11(4), 1212–1230. <https://doi.org/10.3390/su11041212>
- Marcolin, É., Forgiarini, L. F., Rodrigues, G., Tieppo, J., Borghetti, G. S., Linck Bassani, V., Nascimento Picada, J. y Possa Marroni, N. (2013). Quercetin decreases liver damage in mice with non-alcoholic steatohepatitis. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 112(6), 385–391. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12049>
- Mata-Sotres, J., Marques, V.H., Barba, D., Braga, A., Araújo, B., Viana, T., Artur N. Rombenso, Increasing dietary SFA:MUFA ratio with low levels of LC-PUFA affected lipid metabolism, tissue fatty acid profile and growth of juvenile California Yellowtail (*Seriola dorsalis*), *Aquaculture*, 543, 2021, 737011, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737011>.
- Middleton, E. Jr. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. En Manthey J.A. y Buslig B.S. (Eds), *Flavonoids in the Living System. Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 439, pp. 175–182). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5335-9_13
- Miller, S. J., Batra, A. K., Shearrer, G. E., House, B. T., Cook, L. T., Pont, S. J., Goran, M. I. y Davis, J. N. (2016). Dietary fibre linked to decreased inflammation in overweight minority youth. *Pediatric Obesity*, 11(1), 33–39. <https://doi.org/10.1111/ijpo.12017>
- Monika, P., Basavaraj, B. V., Chidambara Murthy, K. N., Alhaya, N. y Gurudev, K. (2017). Nanocapsules of catechin rich extract for enhanced antioxidant potential and in vitro bioavailability. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(1): 184–188. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70126>
- Morán-Ramos, S., Avila-Nava, A., Tovar, A. R., Pedraza-Chaverri, J., López-Romero, P. y Torres. N. (2012). *Opuntia ficus indica* (nopal) attenuates hepatic steatosis and oxidative stress in obese

- zucker (fa/fa) rats. *The Journal of Nutrition*, 142(11), 1956–1963. <https://doi.org/10.3945/jn.112.165563>
- Nakagawa, H., Mustafa, M. G., Takii, K., Umino, T. y Kumai, H. (2000). Effect of dietary catechin and Spirulina on vitamin c metabolism in red sea bream. *Fisheries Science*, 66(2), 321–326. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2000.00050.x>
- Nieto, S., Garrido, A., Sanhueza, J., Loyola, L., A., Morales, G., Leighton, F. y Valenzuela, A. (1993). Flavonoids as stabilizers of fish oil: an alternative to synthetic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(8), 773–778. <https://doi.org/10.1007/BF02542599>
- Panchal, S. K., Poudyal, H. y Brown, L. (2012). Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *The Journal of Nutrition*, 142(6), 1026–1032. <https://doi.org/10.3945/jn.111.157263>
- Park, K. H., Rodriguez-Montes de Oca, G. A., Bonello, P., Lee, K.-J. y Dabrowski, K. (2009). Determination of quercetin concentrations in fish tissues after feeding quercetin-containing diets. *Aquaculture International*, 17(6), 537–544. <https://doi.org/10.1007/s10499-008-9222-6>
- Parnell, J. A., Raman, M., Rioux, K. P. y Reimer, R. A. (2012). The potential role of prebiotic fibre for treatment and management of non-alcoholic fatty liver disease and associated obesity and insulin resistance. *Liver International*, 32(5), 701–711. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02730.x>
- de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. y Rivas-Gonzalo, J. C. (2000). Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11): 5331–5337. <https://doi.org/10.1021/jf000549h>
- Patil, G., Mian, R., Vuong, T., Pantalone, V., Song, Q., Chen, P., Shannon, G. R., Carter, T. C. y Nguyen, H. T. (2017). Molecular mapping and genomics of soybean seed protein: a review and perspective for the future. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(10), 1975–1991. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2955-8>
- Pelletier, N., Klinger, D.H., Sims, N. A., Yoshioka, J.-R. y Kittinger, J. N. (2018). Nutritional attributes, substitutability, scalability, and environmental intensity of an illustrative subset of current and future protein sources for aquaculture feeds: joint consideration of potential synergies and trade-offs. *Environmental Science and Technology*, 52(10), 5532–5544. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05468>
- Plakas, S. M., Lee, T. C. y Wolke, R. E. (1985). Absence of overt toxicity from feeding the flavonol, quercetin, to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Food and Chemical Toxicology*, 23(12), 1077–1080. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90055-9](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90055-9)

- Prakash, M., Basavaraj, B. V. y Chidambara Murthy, K. N. (2019). Biological functions of epicatechin: plant cell to human cell health. *Journal of Functional Foods*, 52, 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.021>
- Pusztai, A. y Grant, G. (1998). Lectin methods and protocols. En J. M. Rhodes y J. D. Milton (Eds.), *Methods in Molecular Medicine* (Vol. 9, pp. 505-514). Humana Press. <http://doi.org/10.1385/0896033961>
- Raj Krishnamurthy, V. M., Wei, G., Baird, B. C., Murtaugh, M., Chonchol, M. B., Raphael, K. L., Greene, T. y Beddhu, S. (2012). High dietary fiber intake is associated with decreased inflammation and all-cause mortality in patients with chronic kidney disease. *Kidney International*, 81(3): 300–306. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.355>
- Rigano, D., Sirignano, C. y Taglialatela-Scafati, O. (2017). The potential of natural products for targeting ppar α . *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 7(4), 427–438. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2017.05.005>
- Ringø, E., Olsen, R. E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G.-I y Bakke, A.M. (2010). Preiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), 117-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>
- Durán C., R. y Valenzuela B., A. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos foshu ¿los verdaderos alimentos funcionales?. *Revista Chilena de Nutricion*, 37(2). 224–233. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200012>
- Rodríguez-Rodríguez, C., Torres, N., Gutiérrez-Urbe, J. A., Noriega, L. G., Torre-Villalvazo, I., Leal-Díaz, A. M., Antunes-Ricardo, M., Márquez-Mota, C., Ordaz, G., Chavez-Santoscoy, R. A., Serna-Saldivar, S. O. y Tovar, A. R. (2015). The effect of isorhamnetin glycosides extracted from *Opuntia ficus-indica* in a mouse model of diet induced obesity. *Food and Function*, 6(3), 805–815. <https://doi.org/10.1039/C4FO01092B>
- Rueda-López, S., Lazo, J. P., Correa Reyes, G., y Viana, M. T. (2011). Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 319(3–4), 385–390. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.07.007>
- Salze, G. P. y Davis, D. A. (2015). Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture*, 437, 215–229. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.006>
- Si, H., Wang, X., Zhang, L., Parnell, L. D., Admed, B., LeRoith, T., Ansah, T.-A., Zhang, L., Li, J., Ordovás, J. M., Si, H., Liu, D. y Lai C.-Q. (2019). Dietary epicatechin improves survival and delays skeletal muscle degeneration in aged mice. *The FASEB Journal*, 33(1), 965–977. <https://doi.org/10.1096/fj.201800554RR>
- Siddiqui, I. A., Adhami, V. M., Bharali, D. J., Hafeez, B. B., Asim, M., Khwaja, S. I., Ahmad, N., Cui, H., Mousa, S. A. y Mukhtar, H. (2009). Introducing nanochemoprevention as a novel approach for

- cancer control: proof of principle with green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate. *Cancer Research*, 69(5), 1712–1716. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3978>
- Slavin, J. L., Martini, M. C., Jacobs, D. R., Jr. y Marquart, L. (1999). Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 459s-463s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/70.3.459s>
- Surampudi, P., Enkhmaa, B., Anuurad, E. y Berglund, L. (2016). Lipid lowering with soluble dietary fiber. *Current Atherosclerosis Reports*, 18(12). <https://doi.org/10.1007/s11883-016-0624-z>
- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Ichiki, T., Endo, M., Hatate, H., Yoshida, T., Sakai, T., Yamashita, H. y Ukawa, M. (2006). Efficacy of taurine supplementation for preventing green liver syndrome and improving growth performance in yearling red sea bream *Pagrus major* fed low-fishmeal diet. *Fisheries Science*, 72(6), 1191–1199. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2006.01276.x>
- Trejo Escamilla, I. (2016). Proteína de soya en dietas de juveniles de *Totoaba macdonaldi* y su efecto sobre la actividad de enzimas digestivas y metabólicas, y salud de los organismos bajo condiciones de cultivo. [Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Baja California]. Catálogo cimarrón - UABC
- True, C.D. (2012). Desarrollo de la biotecnia de cultivo de *Totoaba macdonaldi*. [Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Baja California]. Catálogo Cimarrón - UABC
- Uebelhack, R., Busch, R., Alt, F., Beah, Z.-M. y Chong, P.-W. (2014). Effects of cactus fiber on the excretion of dietary fat in healthy subjects: a double blind, randomized, placebo-controlled, crossover clinical investigation. *Current Therapeutic Research*, 76, 39–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.curtheres.2014.02.001>
- Velázquez, K. T., Enos, R. T., Narsale, A. A., Puppa, M. J., Davis, J. M., Murphy, E. A. y Carson, J. A. (2014). Quercetin supplementation attenuates the progression of cancer cachexia in *apcmin/+* mice. *The Journal of Nutrition*, 144(6): 868–875. <https://doi.org/10.3945/jn.113.188367>
- Veronese, N., Solmi, M., Caruso, M. G., Giannelli, G., Osella, A. R., Evangelou, E., Maggi, S., Fontana, L., Stubbs, B., y Tzoulaki, I. (2018). Dietary fiber and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *American Journal of Clinical Nutrition*, 107(3), 436–444. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqx082>
- Van De Wier, B., Koek, G. H., Bast, A. y Haenen, G. R. M. M. (2017). The potential of flavonoids in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(4). 834-855. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.952399>

- Yap, F., Craddock, L. y Yang, J. (2011). Mechanism of ampk suppression of lxr-dependent srebp-1c transcription. *International Journal of Biological Sciences*, 7(5), 645–650. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7.645>
- Yuan, Y., Pan, B., Niu, X., Yao, X., Sun, M., Xu, M. y Zhu, Q. (2019). Impacts of epicatechin on the formation of advanced lipid oxidation end products (ales) in a fish oil oxidation model. *LWT - Food science and Technology*, 111, 582–587. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.081>
- Xu, J. Z., Yeung, S. Y. V., Chang, Q., Huang, Y. y Chen, Z.-Y. (2004). Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. *British Journal of Nutrition*, 91(6), 873–881. <https://doi.org/10.1079/BJN20041132>
- Zhai, S.-W. y Liu, S.-L. (2013). Effects of dietary quercetin on growth performance, serum lipids level and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Italian Journal of Animal Science*, 12(4), 523–527. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e85>