

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



“Influencia de la biodisponibilidad de taurina en los perfiles de ácidos grasos
en juveniles de jurel *Seriola dorsalis*”

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA

PRESENTA

Aída Aimeé García Organista

Ensenada, Baja California, México, septiembre 2018.

INFLUENCIA DE LA BIODISPONIBILIDAD DE TAURINA EN LOS PERFILES DE
ÁCIDOS GRASOS EN JUVENILES DE JUREL *SERIOLA DORSALIS*

TESIS

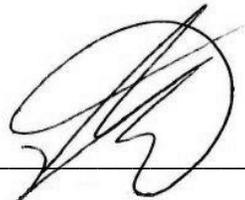
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

BIOTECNÓLOGO EN ACUACULTURA

PRESENTA:

AÍDA AIMEÉ GARCÍA ORGANISTA

APROBADO POR:



Director de Tesis

Dr. José Antonio Mata Sotres



Dra. María teresa Viana Castrillón

Sinodal



Dr. Fernando Barreto Curiel

Sinodal

Agradecimientos



RESUMEN de tesis para obtener el grado de Licenciada en Biotecnología en Acuicultura que presenta **Aida Aimeé García Organista** como requisito parcial para su titulación en la Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, Baja California, México. Octubre 2016.

“Influencia de la biodisponibilidad de taurina en los perfiles de ácidos grasos en juveniles de jurel *Seriola dorsalis*”

Resumen aprobado por:



Dr. José Antonio Mata Sotres

Debido a la disponibilidad limitada y a la creciente demanda tanto de la harina como del aceite de pescado, los precios de estos ingredientes aumentan constantemente impulsando la búsqueda de fuentes alternativas de proteínas y de lípidos. Sin embargo, esas fuentes alternativas carecen de ciertos nutrientes claves, como lo son la taurina y el colesterol. Por lo tanto, en la presente tesis se pretende evaluar el efecto de la suplementación de taurina en la dieta de *S. dorsalis* sobre el desempeño y perfiles de ácidos grasos del organismo. En los resultados se puede observar que la adición de metionina como un precursor de la taurina no fue eficiente como lo fue el proporcionar taurina intacta. Además, los perfiles de ácidos grasos generalmente imitaron la composición de ácidos grasos de la dieta, mientras que los diferentes tejidos fueron modificados de manera distinta por la metionina y taurina en la dieta. El hallazgo más interesante de la presente tesis fue la aparente reducción de ácidos grasos omega-3, en particular LC-PUFAs en los peces alimentados con dietas suplementadas con taurina. En relación al crecimiento, las dietas suplementadas con taurina superaron a las dietas MET y CONTROL. Por lo tanto, se recomienda agregar dicho nutriente en las dietas para jurel.

Palabras Clave: *Seriola dorsalis*, Ácidos grasos, Taurina

Índice General

Introducción.....	1
Jurel.....	5
Hipótesis	7
Objetivos.....	8
Objetivo General	8
Objetivos Específicos	8
Materiales y Métodos.....	9
Formulación y elaboración de dietas experimentales.....	9
Diseño experimental y bioensayo.....	14
Parámetros de crecimiento	15
Análisis proximales y de ácidos grasos (dietas, pez completo, músculo, hígado).....	16
Expresión de ácido graso sintasa (fas)	17
Estadística	19
Resultados	20
Discusión.....	33
Conclusión	37
Referencias	38

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Formulación y composición proximal de la dieta. -----	10
Cuadro 2. Composición de ácidos grasos en la dieta. -----	13
Cuadro 3. Secuencias de los pares de primers usados para q-PCR, tamaño del amplicon en pares de bases (bp), eficiencias de las reacciones (E) y coeficiente de determinación de Pearson's (R2).-----	18
Cuadro 4. Rendimiento de los juveniles de jurel por tratamiento dietético. -----	24
Cuadro 5. Composición de ácidos grasos en pez completo, materia seca (g/kg), y contenido lipídico (g/kg, sobre materia seca).-----	25
Cuadro 6. Composición de ácidos grasos y contenido lipídico en músculo (g/kg, sobre base húmeda). -----	27
Cuadro 7. Composición de ácidos grasos en hígado.-----	29
Cuadro 8. Composición proximal del pez completo, músculo e hígado (g/kg, sobre materia seca) de jurel por tratamiento dietético. -----	31

Índice de Figuras

Figura 1. Expresión relativa de ácido graso sintasa (fas) en juveniles *S. dorsalis* por tratamiento dietético (n=9). Las diferentes letras representan valores significativamente diferentes ($P < 0.05$). ----- 32

Introducción

En la actualidad más de 7 billones de personas viven en el planeta, se prevé que esta cifra alcanzará los 8.5 para el año 2030 y 9.7 billones en el 2050 (ONU, 2015). Por lo tanto, se originará un aumento en la demanda de alimento principalmente por proteína de origen animal (FAO, 2015). En este contexto, actividades como la pesca y la acuicultura satisfarán en gran medida dicha necesidad. Mientras que la industria pesquera se ha mantenido relativamente estancada en las últimas décadas con una producción anual entre 80-90 millones de toneladas, la acuicultura ha crecido con suma rapidez (FAO, 2014, 2015). Tan sólo en el año 2015, la producción acuícola consistió en aproximadamente 78 millones de toneladas (FAO, 2016). Por consiguiente, la acuicultura fungirá como el principal responsable para suplir la demanda mundial de alimento que la pesca por sí sola no podrá sustentar a largo plazo.

En materia de acuicultura en México, la SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) ha impulsado y contribuido con la expansión de un sector que promueve la seguridad alimentaria y la sostenibilidad. Las principales especies cultivadas en México son en su mayoría dulceacuícolas como la tilapia (*Oreochromis sp.*), la carpa (*Cyprinus carpio*), el bagre (*Ictalurus punctatus*), la trucha (*Onchorynchus mykiss*), lobina (*Micopterus sp.*) y diversos peces de ornato. Según el Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, en el año 2013 se produjeron un total de 108,535 toneladas bajo sistemas controlados y 137,225 toneladas mediante las pesquerías

acuaculturales (SAGARPA, 2014). A pesar de que la acuicultura es una de las actividades que ha adquirido mayor importancia en los últimos años en nuestro país su desarrollo ha sido incipiente. Además, el cultivo de peces marinos ha progresado escasamente en relación al alto potencial que posee (Álvarez *et al.*, 2012).

La maricultura en México es muy prometedora dadas las características geográficas y oceanográficas naturales presentes en algunas regiones de costa, además de haber un creciente desarrollo en investigación y tecnología. En el estado de Baja California se ha iniciado la cría de varias especies marinas como la lobina rayada (*Morone saxatilis*), corvina blanca (*Atractoscion nobilis*), el atún aleta azul (*Thunnus orientalis*), la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) y el jurel (*Seriola dorsalis*) (CESAIBC, 2016). Con el fin de que esta actividad pueda ser impulsada y su diversificación se vea favorecida, es necesaria la investigación sobre la formulación de alimentos balanceados. De este modo se podrá reducir la presión sobre el recurso silvestre, a la vez que se satisfarían los requerimientos nutricionales específicos de cada especie, permitiéndole así un óptimo desarrollo, crecimiento, reproducción y salud de los organismos (FAO, 2014).

No obstante, el avance de la acuicultura ha dependido en gran medida de la utilización de la harina y aceite de pescado para la elaboración del alimento (Tacon y Metian, 2015). La harina de pescado es un ingrediente importante en la formulación de dietas ya que es una fuente de proteína de alta calidad con un perfil favorable de aminoácidos, además de presentar una elevada digestibilidad (Tacon y Metian, 2015). Otro

ingrediente muy importante en la nutrición acuícola es el aceite de pescado, el cual es rico en energía digestible y ácidos grasos esenciales, por lo que su presencia es muy importante para garantizar un adecuado desempeño y salud fisiológica de los peces (Turchini *et al.*, 2009). Sin embargo, ambos ingredientes son derivados de una pesquería estancada que ya no tiene posibilidad de aumentar su producción (FAO, 2014, 2015). Debido a la disponibilidad limitada y a la creciente demanda por esos ingredientes, los precios aumentan constantemente impulsando la búsqueda de fuentes alternativas de proteínas y de lípidos.

En general, esas fuentes alternativas carecen de ciertos nutrientes claves, como lo son la taurina y el colesterol. Cuando la harina y el aceite de pescado son sustituidos por ingredientes alternativos, el perfil de ácidos grasos del filete y su valor nutricional asociado se ve modificado como reflejo de una formulación deficiente de las dietas. Además, la supervivencia, y la eficiencia del crecimiento de los peces también se pueden ver afectados negativamente por la sustitución de la harina y del aceite de pescado si la dieta no proporciona niveles adecuados de aminoácidos y ácidos grasos esenciales (Turchini *et al.*, 2009).

La taurina es un ácido sulfónico (Ácido 2-amino-etano-sulfónico) que está presente de manera natural en el tejido de animales como mamíferos, aves, peces e invertebrados acuáticos (Salze y Davis, 2015). A pesar de que una vasta cantidad de taurina se encuentra en la proteína de origen animal (incluyendo la harina de pescado), la taurina es

prácticamente inexistente en la proteína de origen vegetal terrestre (Johnson *et al.*, 2015). Con la creciente sustitución de harina de pescado por ingredientes alternativos en la elaboración de alimentos para la acuicultura, lo mencionado anteriormente implica un problema dado que ciertos animales como el jurel, no tienen la capacidad metabólica de sintetizar taurina por lo que requieren obtenerla a través de la dieta para llevar a cabo numerosos procesos fisiológicos (Salze y Davis, 2015).

Recientemente, el requerimiento cuantitativo de taurina fue reportado para diversas especies incluyendo al jurel *Seriola dorsalis* (antes *Seriola lalandi*; Martínez-Takeshita *et al.*, 2015; Salze *et al.*, 2017). La suplementación de taurina en la dieta para jurel mejoró el rendimiento y la eficiencia alimenticia. Los requerimientos de taurina para el jurel fueron reportados como 0.26% y 0.29% con base en el crecimiento y depósito de proteína (Jirsa *et al.*, 2014; Salze *et al.*, 2017). Asimismo, la eficiencia en el depósito de proteína y en la acumulación de taurina en el tejido se optimizó cuando los niveles de taurina fueron 0.26-1.00% y 0.64%, respectivamente (Salze *et al.*, 2017).

La taurina es un nutriente que está involucrado en varios procesos fisiológicos importantes como la osmorregulación, la modulación de la respuesta inmune, la síntesis de sales biliares, el control de los niveles de colesterol en plasma; además de contribuir en funciones visuales, neurales y musculares (Fang *et al.*, 2002; Omura e Inagaki, 2000). De igual manera, es posible que dicho nutriente intervenga también en el metabolismo de ácidos grasos. La investigación sobre el efecto de los aminoácidos y ácidos sulfónicos sobre

el metabolismo de ácidos grasos es escasa. Por este motivo, el principal propósito de la presente investigación es proporcionar nuevos datos que contribuyan a mejorar el entendimiento de cómo la biodisponibilidad de taurina puede afectar el perfil de ácidos grasos del jurel, y al dar a conocer esta información, originar más interés en esta extensa área de estudio.

Jurel

Seriola dorsalis, conocido comúnmente como jurel, es un pez marino pelágico perteneciente a la familia Carangidae. Anteriormente fue clasificado erróneamente como *Seriola lalandi*, por ser dos especies morfológicamente indistinguibles, sin embargo, son distintas genéticamente. Mientras que el género *Seriola* se distribuye globalmente en aguas templadas y subtropicales, *S. dorsalis* habita específicamente las regiones de California en Estados Unidos, Baja California y el Golfo de California en México (Martínez-Takeshita *et al.*, 2015).

El jurel es un pez carnívoro que se alimenta principalmente de macarela, anchoveta, sardina y calamar (Avilés y Castelló. 2004). Se caracteriza por su cuerpo elongado, lateralmente comprimido, la presencia de dos espinas que preceden a la aleta anal, un pedúnculo caudal delgado y una línea longitudinal amarilla. Pueden alcanzar los 200 cm de longitud y pesar hasta 50-60 kg (Nakada, 2008).

El interés en la producción acuícola del jurel ha incrementado debido al declive de los stocks en el medio natural y a que la demanda excede a la oferta en el mercado. Actualmente se cultiva en Japón, Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica, Chile y México (Martinez-Takeshita *et al.*, 2015).

Hipótesis

La biodisponibilidad de taurina en la dieta de jurel *S. dorsalis* resultará en un efecto positivo en el crecimiento, pero disminuirá el contenido de grasa de los tejidos, que a su vez cambiará en el perfil de ácidos grasos del organismo.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto de la suplementación de taurina en la dieta de *S. dorsalis* sobre el desempeño y perfiles de ácidos grasos en jurel.

Objetivos Específicos

- ∴ Evaluar el rendimiento en crecimiento de *S. dorsalis* bajo la influencia de dietas suplementadas con diferentes niveles de taurina.
- ∴ Evaluar cómo la biodisponibilidad de taurina modifica la composición proximal de los diferentes tejidos (pez completo, filete y hígado) de *S. dorsalis*.
- ∴ Evaluar cómo la biodisponibilidad de taurina modifica los perfiles de ácidos grasos de los diferentes tejidos (pez completo, filete y hígado) de *S. dorsalis*.
- ∴ Evaluar la expresión del gen *fas* (involucrado en la síntesis de ácidos grasos) en hígado de *S. dorsalis* en función de la biodisponibilidad de taurina.
- ∴ Evaluar cómo la calidad nutricional del filete se ve influenciado por la biodisponibilidad de taurina en las dietas de *S. dorsalis*.

Materiales y Métodos

Formulación y elaboración de dietas experimentales

Se formularon cuatro dietas experimentales en donde se sustituyeron los niveles de taurina y metionina (Cuadro 1). Para el tratamiento Control se formuló una dieta base que contenía 271 g/kg de harina de pescado y 60 g/kg de aceite de pescado (Scoular de México S. de R.L. de C.V.), 280 g/kg de harina de pollo (National Renderers Association, MI, EUA) y 81 g/kg de harina de soya (Alimentos Integronaturales S.A.). Los demás tratamientos dietéticos se prepararon suplementando individualmente o de manera combinada metionina (MET) y taurina (TAU) en una proporción de 10 g/kg. Por consiguiente, resultaron cuatro tratamientos dietéticos que fueron designados como: Control, MET, TAU y MET+TAU

Las dietas se manufacturaron en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Alimentos para la Acuicultura (LINDEAACUA) perteneciente al laboratorio de Nutrición y Fisiología Digestiva de Organismos Acuáticos del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California (IIO-UABC) en Ensenada, México. Los macronutrientes fueron molidos hasta obtener una partícula de 0.8 milímetros (Pulvex 2000, México), cernidos (Kemutek-gardner K300, EUA) mezclados y homogeneizados con un procesador vertical de alimentos (Robot Coupe, modelo R60, Francia).

Cuadro 1. Formulación y composición proximal de la dieta.

Ingrediente	CONTROL	MET	TAU	MET + TAU
	g/kg			
Harina de pescado ^a	271.0	272.0	272.0	272.0
Harina de ave ^b	280.0	280.0	280.0	280.0
Harina de soya ^c	81.0	70.0	70.0	70.0
Gluten de trigo ^d	120.0	120.0	120.0	115.0
Maicena ^e	82.0	82.0	82.0	77.0
Gelatina ^f	60.0	60.0	60.0	60.0
Aceite de pescado ^g	60.0	60.0	60.0	60.0
Rovimix ^h	30.0	30.0	30.0	30.0
Stay C ⁱ	2.5	2.5	2.5	2.5
Benzoato de sodio	2.0	2.0	2.0	2.0
BHT	0.1	0.1	0.1	0.1
Metionina	0	10.0	0	10.0
Taurina	0	0	10.0	10.0
Lisina	5.4	5.4	5.4	5.4
Treonina	2.0	2.0	2.0	2.0
Isoleucina	4.0	4.0	4.0	4.0
Composición proximal ^j	g/kg, sobre base seca (excepto materia seca)			
Materia seca	972 ±0	966±1	907±1	953±1
Proteína	571±7	570±12	573±2	554±8
Lípidos	129±2	125±1	133±1	128±2
Cenizas	121±0	119±0	120±0	122±0

^a Harina de pescado 65% proteína. Scoular de México S. de R.L. de C.V.

^b Harina de ave 68% proteína, National Renderers Association, Missouri, United States.

^c Harina de soya 45-48% proteína. Alimentos Integronaturales S.A. (COLPAC), Nuevo León, México.

^d Gluten de trigo 65% proteína. Archer Daniels Midland Company, Illinois, United States.

^e Industrializadora de Maíz S.A. de C.V., México.

^f Progel Mexicana S.A. de C.V., México.

^g Scoular de México, S. de R.L. de C.V.

^h DSM Nutritional Products México, S.A. de C.V., contiene (Colecalciferol, menadiona, tiamina, riboflavina, piridoxina, cianocobalamina, ácido pantoténico, ácido fólico, cloruro de colina, cobre, óxido de zinc, hierro, óxido de manganeso, yoduro de potasio, selenio, fósforo, potasio, sodio, calcio, ácidos orgánicos, taurina, silicatos, óxido de silicio, dióxido de silicio, óxido de aluminio).

ⁱ DSM Nutritional Products México, S.A. de C.V. contiene (350mg L-ácido ascórbico por gramo).

Por otro lado, los micronutrientes fueron mezclados durante un minuto (Robot Coupe R-60, Francia) y en seguida se incorporaron a la mezcla de harinas. Tanto la maicena como la gelatina se hidrataron y homogeneizaron con agua caliente antes de ser incorporadas al resto de los ingredientes. El aceite de pescado fue añadido, una vez que se incorporó, se agregó agua gradualmente hasta que se logró la textura deseada. La mezcla se peletizó utilizando un molino comercial para carne (Modelo y país), se cortó para obtener un pellet de 2-3 milímetros y secada a 40 °C durante 24 horas hasta alcanzar >90% de humedad. Todas las dietas se mantuvieron en refrigeración (4° C) durante el periodo de bioensayo.

Las dietas fueron analizadas por triplicado para confirmar la composición proximal de acuerdo a la AOAC (1990). En concreto, el contenido de humedad fue determinado por método gravimétrico indirecto por desecación, colocando las muestras previamente molidas en una estufa a 60 °C por un lapso de 24 horas, hasta alcanzar un peso constante. De manera similar, las cenizas totales se estimaron con el método de calcinación en una mufla a 550 °C durante 8 horas. La medición de proteína cruda se realizó por medio de la cuantificación de nitrógeno por el método micro-Kjeldahl, seguido de la destilación y titulación automática (UDK 129, Velp, Italia). Los lípidos totales fueron determinados gravimétricamente y extraídos según el método Soxhlet empleando éter de petróleo como solvente (Cuadro 2).

Los lípidos para el análisis de ácidos grasos se extrajeron con diclorometano/metanol (2:1, v/v) acorde al método adaptado de Folch et al. (1957). Los lípidos totales fueron saponificados con solución metanólica y secados bajo atmósfera de nitrógeno. Las muestras reservadas de lípidos crudos fueron analizadas mediante una reacción de transmetilación catalizada con ácido conforme a lo establecido por Christie (1982), utilizando trifluoruro de boro al 14% en metanol. Los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron analizados por medio de cromatografía de gases (Agilent GC 6850, Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) con inyección manual en el modo “splitless” (sin división de muestra). El cromatógrafo de gases contaba con detector de ionización de llama (FID por sus siglas en inglés), una columna capilar (60 m x 0.25 mm con 0.25 μm de espesura; Agilent 122-2362E DB-23), y nitrógeno como fase móvil gaseosa. El método utilizado inicia con una temperatura del horno a 140 °C por 1 min, después pasa de 140 °C a 170 °C a una tasa de 6.5 °C por min, en seguida la temperatura pasa de 170 °C a 215 °C a una tasa de 2.5 °C por min y se mantiene a 215 °C por 12 min. Por fin la temperatura sube de 215 °C a 230 °C a una tasa de 4 °C por min y se mantiene en 230 °C por 3 minutos. La cuantificación de los ésteres metílicos de ácidos grasos se realizó comparando los tiempos de retención entre las muestras y los estándares (37 Component FAME Mix, PUFA 1 y PUFA 3, Supelco/Sigma-Aldrich) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición de ácidos grasos en la dieta. Los valores están representados como medias de mínimos cuadrados \pm SEM (error estándar de la media por sus siglas en inglés); muestras por triplicado de los principales ácidos grasos (representando > 1% del total de los ésteres metílicos de ácidos grasos [FAMEs]); los valores SEM < 0.1 son reportados como “0.0”. Los valores de coeficiente de distancia (D_{jh}) fueron calculados como valor único de las medias de los ácidos grasos enlistados y no fueron sujetos a un análisis estadístico formal.

Ácidos grasos	CONTROL	MET	TAU	MET + TAU	SEM
	g/100 g Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs)				
14:0	6.7	8.9	7.8	7.0	0.5
16:0	24.1	25.2	25.0	24.6	0.3
SFAs ^a	32.2	35.8	34.5	33.1	0.8
16:1n-7	7.5	8.2	7.4	7.5	0.2
18:1n-9	14.6	13.4	13.8	14.2	0.3
18:1n-7	5.7	5.2	6.0	5.6	0.2
MUFAs ^b	28.9	28.0	28.4	28.5	0.2
16:3n-4	1.3	1.4	2.0	1.3	0.2
18:2n-6	9.3	8.2	9.1	8.9	0.3
20:1n-6	1.1	1.2	1.1	1.1	0.0
20:4n-6	2.4	2.2	2.2	2.4	0.1
n-6 ^c	12.8	11.6	12.4	12.4	0.3
18:4n-3	1.0	1.0	1.1	1.0	0.0
20:5n-3	9.4	9.1	8.9	9.5	0.3
22:5n-3	1.4	1.3	1.3	1.6	0.1
22:6n-3	12.1	11.0	10.5	11.8	0.4
n-3 ^d	24.5	23.0	22.5	24.6	0.5
PUFAs ^e	38.8	36.2	37.0	38.4	0.6
C ₁₈ PUFAs ^f	10.8	9.7	10.7	10.5	0.3
LC-PUFAs ^g	25.7	24.1	23.4	25.7	0.6
n-3:n-6	1.9	2.0	1.8	2.0	0.0
DHA:EPA	1.3	1.2	1.2	1.2	0.0
D_{jh}	0.0	3.3	2.5	0.9	-

- ^a Ácidos grasos saturados —suma de todos los ácidos grasos carentes de dobles enlaces; incluye 15:0 y 18:0 además de los SFAs reportados individualmente.
- ^b Ácidos grasos monoinsaturados—suma de todos los ácidos grasos con un solo doble enlace.
- ^c Suma de todos los ácidos grasos n-6.
- ^d Suma de todos los ácidos grasos n-3; incluye 18:3n-3 y 20:4n-3 además de los ácidos grasos n-3 reportados individualmente.
- ^e Ácidos grasos poliinsaturados —suma de todos los ácidos grasos con ≥ 2 dobles enlaces; incluye 16:2n-4 además de los PUFAs reportados individualmente.
- ^f Suma de todos los PUFAs con cadenas de 18 átomos de carbon; incluye 18:3n-4 además de los C₁₈ PUFAs reportados individualmente.
- ^g PUFAs de cadena larga—suma de todos los ácidos grasos con cadenas de ≥ 20 átomos de carbono y ≥ 3 dobles enlaces.

Diseño experimental y bioensayo

72 juveniles de jurel (58.2 ± 0.5 g) fueron proporcionados por Baja Seas S.A. de C.V., centro de reproducción de jurel, ubicado en el Ejido Eréndira en Ensenada, Baja California. El bioensayo se llevó a cabo en un sistema de recirculación conformado por 12 tanques circulares de 500 L, piedra de aireación y sedimentador independiente para cada tanque, un biofiltro de beads (PolyGeysers®), luz ultravioleta y un tanque de compensación de 2 mil litros. Los organismos fueron separados al azar y almacenados en una proporción de seis peces por tanque. Éstos se aclimataron durante dos semanas y fueron alimentados con una dieta comercial para especies carnívoras tres veces al día hasta saciedad aparente.

Los tratamientos Control, MET, TAU y MET+TAU fueron asignados al azar, resultando en 3 tanques (réplicas) por dieta. Los peces fueron alimentados manualmente tres veces por día con un 5% de la biomasa y los tanques eran sifonados una vez por día. Asimismo, se realizaron biometrías cada 15 días con el fin de ajustar la biomasa alimentada conforme los peces fueron aumentando de peso.

La temperatura se controlaba y mantenía estable a 21.5 ± 0.5 °C con una resistencia colocada dentro del tanque de compensación, mientras que el fotoperiodo (10 horas luz y 14 horas oscuridad) era dependiente de condiciones ambientales naturales. La temperatura, el oxígeno disuelto (7.15 ± 0.14 mg/L) y la salinidad (34.1 ± 0.2 psu) se midieron diariamente con ayuda de un multi-parámetro YSI-55 (YSI Inc., Yellow Springs, OH, EUA). El amoníaco total (0.28 ± 0.08 mg/L), nitrito (0.97 ± 0.97 mg/L) y nitrato (46.7 ± 30.5 mg/L) se cuantificaron tres veces a la semana empleando kits colorimétricos API (Mars Fishcare Inc, Chalfont, PA, EUA) y el pH (7.5 ± 0.08 mg/L) se midió semanalmente usando un potenciómetro Thermo Scientific Orion 4-star (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA).

Parámetros de crecimiento

Al término de las seis semanas de duración del bioensayo, los peces de cada tanque fueron contados y pesados por grupo para evaluar el rendimiento con base en las siguientes medidas:

$$\text{Ganancia en peso (\%)} = 100 \times \frac{(\text{peso individual promedio final} - \text{peso individual promedio inicial})}{\text{peso individual promedio inicial}}$$

$$\text{Índice de conversión alimenticia} = \frac{\text{consumo de alimento diario promedio}}{\text{ganancia en peso individual promedio}}$$

$$\text{Tasa de Crecimiento Específica} = 100 \times \frac{\log_e \text{ peso promedio final} - \log_e \text{ peso promedio inicial}}{\text{días de alimentación}}$$

$$\text{Consumo de alimento} = 100 \times \frac{\text{consumo individual de alimento promedio}}{(\text{peso individual promedio inicial} \times \text{peso individual promedio final})^{0.5} / \text{días de alimentación}}$$

$$\text{Coeficiente de crecimiento térmico} = \{[(\text{peso individual promedio final})^{0.333} - (\text{peso individual promedio inicial})^{0.333}] / (\text{temperatura en } ^\circ\text{C} \times \text{tiempo en días})\}$$

Tres peces por tanque fueron sacrificados por shock térmico en agua con hielo y utilizados para los posteriores análisis de cuerpo entero. Los tres organismos restantes fueron anestesiados con una solución de 2 fenoxietanol (100 ppm); -se realizó una extracción sanguínea a cada pez utilizando jeringas para tuberculina de 1 mL y tubos vacutainer (Vacutainer®; Franklin Lakes, NJ, EUA). Las muestras de sangre fueron utilizadas para un trabajo complementario no descrito en esta tesis. Posteriormente, los peces fueron medidos, pesados y disecados para registrar los siguientes parámetros morfométricos:

Índice hepatosomático = $100 \times (\text{peso del hígado} / \text{peso del cuerpo entero})$

Índice viscerosomático = $100 \times (\text{peso de las vísceras} / \text{peso del cuerpo entero})$

Índice biliar = $100 \times (\text{peso de la vesícula biliar} / \text{peso del cuerpo entero})$

Factor de condición = $100 \times [(\text{peso individual promedio final} / \text{longitud individual promedio final})^3]$.

Adicionalmente, se colectaron muestras de músculo e hígado y se almacenaron en un ultra congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de utilizarse para los análisis de ácidos grasos.

Análisis proximales y de ácidos grasos (dietas, pez completo, músculo, hígado)

Con el propósito de analizarlas químicamente siguiendo el protocolo para proximales y el método de Folch mencionado con anterioridad, las muestras de cuerpo entero, músculo e hígado fueron molidas hasta lograr una mezcla homogénea. Las dos primeras se trituraron en un procesador de alimento KitchenAid KFC3516QG, la dieta se

pulverizó en un molino IKA Tube Mill Control y el hígado se molió manualmente en un mortero. Se almacenaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Los valores de coeficiente de distancia (Turchini *et al.*, 2007) se utilizaron para comparar los perfiles de ácidos grasos entre los tratamientos experimentales y el tratamiento control.

$$D_{jh} = \left[\sum_{i=1}^n (P_{ij} - P_{ih})^2 \right]^{1/2}$$

Donde P_{ij} es la proporción (%) del ácido graso “i” en el grupo Control y P_{ih} es la proporción del ácido graso “i” en un tratamiento experimental. Sólo los principales ácidos grasos individuales (>1% del total de FAME cuantificados) se incorporaron en los cálculos. El número total de ácidos grasos incluidos en cada cálculo varió entre tejidos y ningún grupo de ácidos grasos como ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de cadena larga fueron utilizados en los cálculos.

Expresión de ácido graso sintasa (fas)

Las muestras de hígado de jurel se conservaron en RNA-later (Ambion) y se mantuvieron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Se utilizó un micro-pistilo para homogeneizar el tejido antes de la extracción. Posteriormente con ayuda del kit NucleoSpin® (Macherey-Nagel) se extrajo el RNA total de cada una de las muestras para cada uno de los tejidos. El ADN genómico (ADNg) se eliminó directamente de las columnas de extracción mediante digestión en DNasa a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos (libre de RNasa) incluida en el kit. La cantidad y calidad de ARN se midió tanto con un gel desnaturalizante como espectrofotométricamente

(Nanodrop® LITE, Thermo Fisher Scientific INC., Wilmington, USA). Sólo las muestras de ARN con OD260nm-DO280nm entre 1.8 y 2.2 fueron utilizados para una posterior retrotranscripción.

El ARN total (500 ng) se transformó a cDNA en una reacción de 20 µL usando el kit de transcripción reversa de cDNA de alta capacidad (Applied Biosystems) en un termociclador de 96 pozos Verity (Applied Biosystems, Carlsbad CA, EE.UU.). El programa de transcripción inversa consistió en 10 min a 25 °C, 120 min a 37 °C, 5 min a 85 °C y finalmente se mantuvo a 4 °C. Las reacciones de qRT-PCR se realizaron con 1 ng de cDNA, primers sentido (Fwd) y antisentido (Rev) (200 nM cada uno, indicados en el cuadro 3) y SYBR® Select Master Mix (Applied Biosystems). β -act como el gen de referencia interno. Las reacciones se realizaron en 10 µl, en placas de reacción MicroAmp® Fast Optical de 96 pocillos (Applied Biosystems) cubiertas con MicroAmp® Optical Adhesive Film (Applied Biosystems).

Cuadro 3. Secuencias de los pares de primers usados para q-PCR, tamaño del amplicon en pares de bases (bp), eficiencias de las reacciones (E) y coeficiente de determinación de Pearson's (R²).

Gene (symbol)	Fwd sequence (5' - 3')	Rev sequence (5' - 3')	Size (bp)	E	R ²
<i>β-act</i>	TGCGTGACATCAAGGAGAAG	AGGAAGGAAGGCTGGAAGAG	1756	0.98	1.00
<i>fas</i>	CCT GCT GGC TTT AGA AAA CG	ACG GCA GTA TCC ATT TCC TG	181	0.97	0.99

La cuantificación relativa de genes se calculó mediante el método $\Delta\Delta C_T$ (Livak y Schmittgen, 2001) utilizando un límite automatizado y una línea de base móvil determinar los valores de CT. Las condiciones de PCR fueron: una desnaturalización inicial y etapa de

activación de la polimerasa durante 10 min a 95°C; 40 ciclos de desnaturalización durante 15 s a 95 °C, alineación y extensión durante 45 s a 60 °C; y finalmente una curva de fusión de 60 °C a 95 °C durante 20 minutos para comprobar los posibles artefactos de dímeros en los primers. La optimización de las condiciones de qRT-PCR se realizaron sobre una temperatura de hibridación del primer de 60 °C, a una concentración de 200 nM cinco diluciones seriadas 1:10 (10 ng a 100 fg de ARN). Las secuencias de nucleótidos para *β-act* y *fas* están disponibles en GenBank bajo números de acceso, KT229636.1 y KT895233.1 respectivamente.

Estadística

Todos los datos, excepto los coeficientes de distancia y expresión de genes, fueron analizados mediante un análisis de varianza de dos factores (ANOVA, Sigma Stat 3.5) para determinar la significancia de la metionina y la taurina incluida en la dieta como principales factores, así como sus interacciones. Cuando se notaron efectos significativos, se empleó el método Holm-Sidak para llevar a cabo el procedimiento de comparaciones múltiples por parejas. Para el caso de expresión de *fas*, los resultados se sometieron a un análisis de ANOVA de una vía, seguidas de una prueba de Tukey en caso de haber diferencias significativas. Para todos los casos, nivel de significación fue determinado con base en un nivel alfa de 0.05 ($p < 0.05$). Los datos de coeficiente de distancia no fueron sujetos a análisis estadístico formal y se presentan como valores únicos para cada tratamiento, los cuales fueron determinados a partir de la media en los niveles de ácidos grasos.

Resultados

Las dietas experimentales fueron bien aceptadas por el jurel y se observó el 100% de la sobrevivencia. El ANOVA de dos factores mostró que la ingesta de dietas con taurina tuvo un efecto significativo positivo en los parámetros de rendimiento de *Seriola dorsalis* (Cuadro 4). En contraste, los tratamientos con metionina, ni la interacción metionina y taurina mostraron diferencias significativas. Mientras que la ganancia en peso para los peces alimentados con la dieta MET+TAU fue de 175 %, para aquellos que se les suministró la dieta MET fue de 129 %. A pesar de que al final del bioensayo no se hallaron valores estadísticamente significativos para el peso final, sí hubo diferencias numéricas marcadas; siendo 160 g para TAU y 133.9 g para MET. Asimismo, los jureles alimentados con la dieta que incluía taurina presentaron un índice de conversión alimenticia más eficiente (1.14) en comparación con los que consumieron dietas en que dicho nutriente estaba ausente (1.24-1.50). La tasa de crecimiento específico más alta la registró la dieta TAU (1.62 % peso corporal/día) y la dieta MET exhibió el valor mínimo (1.29 % peso corporal/día). De igual manera, tanto el coeficiente de crecimiento térmico, como el factor de condición fueron mayores para TAU. No se observaron variaciones significativas en los índices hepatosomático, viscerosomático y biliar.

La composición proximal del cuerpo entero no se vio afectada por los tratamientos dietéticos. El contenido proteico del músculo fue influenciado por la metionina incluida en la dieta; los peces alimentados con la dieta MET exhibieron niveles significativamente más altos que aquellos alimentados con la dieta control. La metionina y taurina en la dieta, así

como sus interacciones afectaron significativamente ($p < 0.05$) el contenido lipídico del músculo, reduciendo los niveles en los grupos MET, TAU y MET+TAU. El contenido de cenizas del músculo se redujo significativamente en los tratamientos TAU y MET+TAU comparados con los tratamientos MET y CONTROL. En lo que respecta al hígado, solamente el contenido lipídico fue afectado por los tratamientos dietéticos, siendo TAU el que exhibió niveles reducidos comparados a los otros tratamientos.

Los resultados obtenidos en relación a los perfiles de ácidos grasos (Cuadros 5, 6 y 7) mostraron que éstos fueron modificados significativamente ($p < 0.05$) por la metionina y taurina en las dietas. De acuerdo al ANOVA de dos vías, los valores promedio de ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) y de ácidos grasos poliinsaturados C_{18} (C_{18} PUFAs) fueron superiores en pez completo inicial comparados con pez completo final, independientemente del tratamiento. Cabe mencionar que el contenido de ácido vaccénico (18:1n-7) en el pez completo exhibió un efecto significativo ($p < 0.05$) de la metionina, taurina e interacción entre metionina y taurina; igualmente, hubo efecto significativo de la metionina y de la interacción de ésta con la taurina sobre el valor del ácido palmitoleico (16:1n-7), a excepción de la taurina, la cual no mostró diferencias relevantes.

Además, en pez completo final se presentó una disminución de ácido oleico (18:1n-9) y ácido estearidónico (18:4n-3) en comparación al pez inicial, indistintamente del tratamiento (Cuadro 5). A pesar de que no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) correspondientes a los ácidos grasos saturados (SFAs), n-3, poliinsaturados (PUFAs) y

poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFAs) entre tratamientos, conviene subrayar las disimilitudes numéricas. Por ejemplo, los peces alimentados con las dietas MET tuvieron niveles más altos de SFAs [37.7 g SFAs/100 g ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME)] y valores menores de LC-PUFAs (19.6 g LC-PUFAs/100 g FAME) que el resto de los tratamientos (30.4-31.9 g SFAs/100 g FAME; 25.8-29.1 g LC-PUFAs/100 g FAME). Igualmente, se encontraron valores numéricamente más bajos de ácido docosahexaenoico (22:6n-3) en los peces alimentados con la dieta MET (8.3 g DHA/100 g FAME) en comparación con las dietas TAU y MET+TAU (11.5-13.3 g DHA/100 g FAME). El análisis de varianza de dos factores en músculo presentó un efecto significativo de la metionina en 16:3n-4 (ácido hexadecatrienoico); efecto significativo de la taurina en 16:0 (ácido palmítico), 16:3n-4 (ácido hexadecatrienoico), 20:5n-3 (ácido eicosapentaenoico), 22:5n-3 (ácido docosapentaenoico), 22:6n-3, ácidos grasos n-3, SFAs, PUFAs, LC-PUFAs y DHA/EPA; así como efecto significativo de la interacción en 20:4n-6 (ácido araquidónico). Concretamente, el músculo de los peces alimentados con dietas a base de taurina evidenció niveles más elevados de 16:0, SFAs, y 20:5n-3; y niveles bajos de 22:5n-3, 22:6n-3, ácidos grasos n-3, PUFAs, LC-PUFAs y DHA/EPA en comparación con los peces alimentados con las dietas CONTROL y MET (Cuadro 6).

Por el contrario, el ANOVA de dos factores en hígado exhibió un efecto significativo ($p < 0.05$) la metionina sobre DHA/EPA; y efecto considerable de la taurina en 14:0 (ácido mirístico), 16:1n-7, 18:1n-9 (ácido oleico), 18:1n-7 y MUFAs (Cuadro 7). Las mayores magnitudes de alteración de los perfiles de ácidos (i.e. mayores valores de D_{jh}) ocurrieron

con la dieta MET en el pez entero, con las dietas TAU y MET+TAU en el músculo y la dieta TAU en hígado. Entre tratamientos dietéticos, el pez entero presentó la distorsión más alta en la composición de ácidos grasos, seguido del hígado y el músculo; pez entero ($D_{jh} = 3.0-7.9$), hígado ($D_{jh} = 1.5-4.6$) y músculo ($D_{jh} = 1.5-3.0$).

El tratamiento MET fue el que presentó una mayor expresión del gen *fas* (0.609 ± 0.15) seguido por MET+TAU (0.373 ± 0.15). En el caso del tratamiento CONTROL y TAU, los niveles de expresión fueron similares (0.057 ± 0.02 y 0.061 ± 0.02 , respectivamente), teniendo en ambos casos una expresión significativamente menor ($p < 0.05$) en comparación a los tratamientos que tienen MET (Figura 1)

Cuadro 4. Rendimiento de los juveniles de jurel por tratamiento dietético. Los valores representan medias de mínimos cuadrados; los valores de error estándar agrupado (PSE) y los valores de *P* fueron generados por ANOVA de dos vías para los factores principales y sus interacciones, las medias con etiquetas comunes no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Los superíndices a, b y c indican diferencias significativas del factor metionina, y los superíndices x, y, z del factor taurina.

Parámetro de rendimiento	Tratamientos dietéticos					PSE	Valor <i>P</i>	
	CONTROL	MET	TAU	MET + TAU	Metionina		Taurina	Metionina X Taurina
Peso inicial (g)	58.2	58.7	59.1	56.7	1.5	0.644	0.797	0.516
Peso final (g)	150.0	133.9	160.0	156.1	5.5	0.238	0.074	0.458
Ganancia en peso (%)	157 ^y	129 ^y	171 ^z	175 ^z	7	0.255	0.016	0.129
Consumo de alimento (% peso corporal/día)	2.2	2.2	2.1	2.2	0.0	0.167		
FCR	1.24 ^z	1.50 ^z	1.14 ^y	1.18 ^y	0.06	0.137	0.040	0.248
SGR	2.1 ^y	1.9 ^y	2.3 ^z	2.3 ^z	0.1	0.225	0.018	0.126
TGC	1.51 ^y	1.29 ^y	1.62 ^z	1.62 ^z	0.05	0.204	0.022	0.172
HSI	1.3	1.1	1.3	1.2	0.0	0.192	0.386	0.662
VSI	7.9	8.0	7.4	8.3	0.2	0.107	0.810	0.217
Índice biliar	0.13	0.16	0.12	0.12	0.02	0.496	0.371	0.526
CF	1.33 ^y	1.32 ^y	1.39 ^z	1.47 ^z	0.02	0.253	0.005	0.143

Cuadro 5. Composición de ácidos grasos en pez completo, materia seca (g/kg), y contenido lipídico (g/kg, sobre materia seca). Los valores representan medias de mínimos cuadrados de los principales ácidos grasos (representando > 1 % del total de los ésteres metílicos de ácidos grasos [FAMES]); también se proporcionan los valores de error estándar agrupado (PSE) y los valores de *P* resultantes del ANOVA de una vía; las medias con etiquetas comunes no son significativamente diferentes (*P* > 0.05). Las letras a, b y c indican diferencias significativas entre los ácidos grasos del pez entero inicial y final, mientras que las letras x, y, z indican el factor metionina y * indica diferencias significativas de interacción metionina y taurina. Los valores de coeficiente de distancia (D_{jh}) fueron calculados como valor único de las medias de los ácidos grasos enlistados y no fueron sujetos a un análisis estadístico formal.

Ácido graso	Pez completo inicial		Pez completo final			PSE	Inicial vs. final	P-value		
	g/100 g	Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES)	CONTROL	MET	TAU			MET + TAU	Metionina	Taurina
14:0	6.5	7.4	10.1	7.4	7.8	2.0	0.506	0.290	0.414	0.409
15:0	0.6	1.1	1.0	0.1	0.3	0.3	0.707	0.885	0.355	0.907
16:0	22.3	20.9	25.5	22.1	22.5	2.3	0.353	0.145	0.566	0.205
SFAs ^a	30.2	30.4	37.7	31.2	31.9	4.3	0.412	0.208	0.415	0.290
16:1n-7	7.3 ^c	7.7 ^{cy*}	10.6 ^{abz}	9.2 ^{bczy}	9.1 ^{bczy}	0.8	0.018	0.032	0.967	0.025
18:1n-9	22.7 ^a	16.3 ^b	14.2 ^b	15.3 ^b	15.5 ^b	0.9	<0.001	0.088	0.790	0.054
18:1n-7	6.0 ^a	5.7 ^{abz*}	4.2 ^{cy}	4.4 ^{by}	4.5 ^{by}	0.4	0.005	0.005	0.022	0.003
MUFAs ^b	36.1 ^a	29.7 ^b	29.0 ^b	29.0 ^b	29.1 ^b	0.9	<0.001	0.579	0.517	0.442
16:2n-4	1.0	1.1	1.5	1.2	1.2	0.2	0.189	0.243	0.586	0.189
16:3n-4	1.1	1.3	1.6	1.4	1.3	0.2	0.180	0.344	0.506	0.190
18:2n-6	8.9	8.1	7.5	8.0	8.0	0.4	0.115	0.371	0.489	0.330
20:1n-6	1.3	1.2	1.3	1.4	1.3	0.1	0.339	0.751	0.139	0.242
20:4n-6	1.3	2.2	1.9	2.3	2.3	0.3	0.086	0.464	0.221	0.414
n-6 ^c	11.5	11.5	10.1	11.7	11.7	3.0	0.616	0.400	0.297	0.437

18:4n-3	2.0 ^a	1.3 ^b	1.2 ^b	1.3 ^b	1.2 ^b	0.1	<0.001	0.205	0.916	0.286
20:5n-3	6.6	8.7	7.3	9.5	9.2	1.3	0.210	0.355	0.188	0.560
22:5n-3	1.4	2.2	1.6	1.9	1.9	0.4	0.376	0.251	0.940	0.273
22:6n-3	8.6	12.3	8.3	11.5	13.3	1.7	0.163	0.425	0.149	0.067
n-3 ^d	19.8	25.4	19.1	25.0	28.0	3.0	0.104	0.499	0.111	0.087
PUFAs ^e	33.7	39.9	33.3	39.8	43.1	3.3	0.109	0.540	0.100	0.098
C ₁₈ PUFAs ^f	11.7 ^a	10.2 ^a	9.3 ^b	9.9 ^b	9.9 ^b	0.5	0.018	0.261	0.657	0.298
LC-PUFAs ^g	18.6	26.0	19.6	25.8	29.1	3.1	0.075	0.544	0.097	0.088
n-3:n-6	1.7	2.2	1.8	2.1	2.3	0.2	0.083	0.366	0.195	0.099
DHA:EPA	1.3	1.4	1.1	1.2	1.4	0.1	0.054	0.130	0.943	0.020
D _{jh}	0.0	0.0	7.9	3.0	3.0	-	-	-	-	-

^a Ácidos grasos saturados —suma de todos los ácidos grasos carentes de dobles enlaces; incluye 18:0 además de los SFAs reportados individualmente.

^b Ácidos grasos monoinsaturados—suma de todos los ácidos grasos con un solo doble enlace.

^c Suma de todos los ácidos grasos n-6.

^d Suma de todos los ácidos grasos n-3; incluye 18:3n-3 y 20:4n-3 además de los ácidos grasos n-3 reportados individualmente.

^e Ácidos grasos poliinsaturados —suma de todos los ácidos grasos con ≥ 2 dobles enlaces

^f Suma de todos los PUFAs con cadenas de 18 átomos de carbon; incluye 18:3n-4 además de los C₁₈ PUFAs reportados individualmente.

^g PUFAs de cadena larga—suma de todos los ácidos grasos con cadenas de ≥ 20 átomos de carbono y ≥ 3 dobles enlaces.

Cuadro 6. Composición de ácidos grasos y contenido lipídico en músculo (g/kg, sobre base húmeda). Los valores representan medias de mínimos cuadrados de los principales ácidos grasos (representando > 1% del total de los ésteres metílicos de ácidos grasos [FAMES]); también se proporcionan los valores de error estándar agrupado (PSE) y los valores de *P* resultantes del ANOVA de una vía; las medias con etiquetas comunes no son significativamente diferentes (*P* > 0.05). Las letras a, b y c indican diferencias significativas en el factor metionina, mientras que las letras x, y, z indican el factor taurina y * indica diferencias significativas de interacción metionina y taurina. Los valores de coeficiente de distancia (*D_{jh}*) fueron calculados como valor único de las medias de los ácidos grasos enlistados y no fueron sujetos a un análisis estadístico formal.

Ácidos grasos	CONTROL	MET	TAU	MET + TAU	PSE	Valor <i>P</i>		
	g/100 g Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES)					Metionina	Taurina	Metionina x Taurina
14:0	4.4	3.5	3.8	3.9	0.3	0.322	0.792	0.274
16:0	19.9 ^y	20.6 ^y	21.6 ^z	22.0 ^z	0.2	0.068	<0.001	0.575
SFAs ^a	25.1 ^y	24.9 ^y	26.5 ^z	26.8 ^z	0.3	0.857	0.004	0.571
16:1n-7	5.1	5.0	5.4	5.2	0.1	0.229	0.088	0.721
18:1n-9	15.5	14.9	14.7	14.6	0.2	0.225	0.057	0.406
18:1n-7	6.8	7.3	7.3	7.4	0.1	0.084	0.061	0.254
MUFAs ^b	28.2	27.9	28.2	27.9	0.3	0.572	0.938	0.943
16:3n-4	1.0 ^{az}	0.9 ^{by}	1.1 ^{az}	1.0 ^{az}	0.0	0.022	0.002	0.114
18:2n-6	7.3	7.1	7.0	7.0	0.1	0.670	0.191	0.432
20:4n-6	2.7 [*]	2.8	2.8	2.8	0.0	0.132	0.182	0.014
n-6 ^c	10.7	10.7	10.6	10.6	0.1	0.876	0.610	0.956
20:5n-3	8.1 ^y	8.3 ^y	8.6 ^z	8.6 ^z	0.1	0.492	0.026	0.424
22:5n-3	3.0 ^z	3.1 ^z	2.7 ^y	2.7 ^y	0.1	0.687	0.013	0.841
22:6n-3	21.8 ^z	22.2 ^z	20.1 ^y	20.2 ^y	0.4	0.706	0.011	0.804
n-3 ^d	34.7 ^z	35.2 ^z	33.1 ^y	33.2 ^y	0.4	0.616	0.017	0.703
PUFAs ^e	46.7 ^z	47.2 ^z	45.3 ^y	45.2 ^y	0.4	0.744	0.015	0.633
C ₁₈ PUFAs ^f	8.8	8.6	8.5	8.6	0.1	0.693	0.360	0.321
LC-PUFAs ^g	36.1 ^z	36.9 ^z	34.8 ^y	34.8 ^y	0.4	0.539	0.024	0.528
n-3:n-6	3.2	3.3	3.1	3.1	0.1	0.689	0.119	0.788
DHA:EPA	2.7 ^z	2.7 ^z	2.3 ^y	2.3 ^y	0.1	0.853	0.003	0.747
<i>D_{jh}</i>	0.0	1.5	2.7	3.0	-	-	-	-

^a Ácidos grasos saturados —suma de todos los ácidos grasos carentes de dobles enlaces; incluye 15:0 y 18:0 además de los SFAs reportados individualmente.

^b Ácidos grasos monoinsaturados—suma de todos los ácidos grasos con un solo doble enlace; incluye 20:1n-6 además de los MUFAs reportados individualmente.

^c Suma de todos los ácidos grasos n-6.

^d Suma de todos los ácidos grasos n-3 ; incluye 18:3n-3, 18:4n-3 y 20:4n-3 además de los ácidos grasos n-3 reportados individualmente.

^e Ácidos grasos poliinsaturados —suma de todos los ácidos grasos con ≥ 2 dobles enlaces; incluye 16:2n-4 además de los PUFAs reportados individualmente.

^f Suma de todos los PUFAs con cadenas de 18 átomos de carbon; incluye 18:3n-4 además de los C₁₈ PUFAs reportados individualmente.

^g PUFAs de cadena larga—suma de todos los ácidos grasos con cadenas de ≥ 20 átomos de carbono y ≥ 3 dobles enlaces.

Cuadro 7. Composición de ácidos grasos en hígado. Los valores representan medias de mínimos cuadrados de los principales ácidos grasos (representando > 1 % del total de los ésteres metílicos de ácidos grasos [FAMEs]); también se proporcionan los valores de error estándar agrupado (PSE) y los valores de *P* resultantes del ANOVA de una vía; las medias con etiquetas comunes no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Las letras a, b y c indican diferencias significativas en el factor metionina, mientras que las letras x, y, z indican el factor taurina. Los valores de coeficiente de distancia (D_{jh}) fueron calculados como valor único de las medias de los ácidos grasos enlistados y no fueron sujetos a un análisis estadístico formal.

Ácidos grasos	CONTROL	MET	TAU	MET + TAU	PSE	Valor <i>P</i>		
	g/100 g	Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs)				Metionina	Taurina	Metionina x Taurina
14:0	4.1 ^z	4.4 ^z	2.7 ^y	3.4 ^{zy}	0.3	0.238	0.010	0.580
16:0	23.6	24.3	21.7	23.5	0.6	0.174	0.146	0.500
SFAs ^a	29.0	29.9	25.5	28.0	0.9	0.187	0.055	0.534
16:1n-7	6.7 ^z	6.7 ^z	5.5 ^y	5.9 ^{zy}	0.2	0.477	0.004	0.483
18:1n-9	17.5 ^y	17.9 ^y	21.1 ^z	19.7 ^z	0.5	0.483	0.004	0.257
18:1n-7	7.2 ^y	7.1 ^y	8.3 ^z	7.8 ^z	0.2	0.356	0.027	0.542
MUFAs ^b	32.0 ^y	32.3 ^y	35.4 ^z	34.0 ^z	0.5	0.411	0.004	0.243
16:3n-4	1.1	1.1	1.0	1.1	0.0	0.217	0.877	0.942
18:2n-6	8.0	7.9	7.6	7.8	0.1	0.808	0.204	0.307
20:4n-6	2.8	2.9	3.0	3.0	0.1	0.665	0.429	0.708
n-6 ^c	11.4	11.4	11.1	11.4	0.2	0.555	0.616	0.539
20:5n-3	5.9	6.1	6.2	6.3	0.2	0.670	0.463	0.863
22:5n-3	4.2	4.0	4.4	3.4	0.3	0.154	0.570	0.333
22:6n-3	13.4	12.2	13.5	12.9	0.6	0.334	0.684	0.704
n-3 ^d	25.7	24.4	26.2	24.6	0.8	0.239	0.749	0.888
PUFAs ^e	39.0	37.8	39.1	38.0	0.9	0.363	0.903	0.978
C ₁₈ PUFAs ^f	9.7	9.5	9.3	9.5	0.2	0.997	0.362	0.479
LC-PUFAs ^g	27.2	26.1	27.9	26.4	0.9	0.321	0.701	0.874
n-3:n-6	2.2	2.1	2.4	2.1	0.0	0.078	0.416	0.490
DHA:EPA	2.3 ^a	2.0 ^b	2.2 ^a	2.1 ^{ab}	0.0	0.025	0.849	0.324
D_{jh}	0.0	1.5	4.6	2.7	-	-	-	-

^a Ácidos grasos saturados —suma de todos los ácidos grasos carentes de dobles enlaces; incluye 15:0 y 18:0 además de los SFAs reportados individualmente.

^b Ácidos grasos monoinsaturados—suma de todos los ácidos grasos con un solo doble enlace; incluye 20:1n-6 además de los MUFAs reportados individualmente.

^c Suma de todos los ácidos grasos n-6.

^d Suma de todos los ácidos grasos n-3; incluye 18:3n-3, 18:4n-3 y 20:4n-3 además de los ácidos grasos n-3 reportados individualmente.

^e Ácidos grasos poliinsaturados —suma de todos los ácidos grasos con ≥ 2 dobles enlaces; incluye 16:2n-4 además de los PUFAs reportados individualmente.

^f Suma de todos los PUFAs con cadenas de 18 átomos de carbon; incluye 18:3n-4 además de los C₁₈ PUFAs reportados individualmente.

^g PUFAs de cadena larga—suma de todos los ácidos grasos con cadenas de ≥ 20 átomos de carbono y ≥ 3 dobles enlaces.

Cuadro 8. Composición proximal del pez completo, músculo e hígado (g/kg, sobre materia seca) de jurel por tratamiento dietético. Los valores representan medias de mínimos cuadrados; los valores de error estándar agrupado (PSE) y los valores *P* fueron generados mediante ANOVA de una vía, las medias con etiquetas comunes no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Las letras a, b y c indican diferencias significativas en el factor metionina, mientras que las letras x, y, z indican el factor taurina

	Tratamientos dietéticos					PSE	Valor <i>P</i>			
	Pez completo inicial	CONTROL	MET	TAU	MET + TAU		Inicial vs. Final	Metionina	Taurina	Metionina x Taurina
<i>Pez completo (g/kg)</i>										
Humedad	740	722	728	721	719	2	0.014	0.721	0.253	0.339
Proteína	696	658	684	654	657	7	0.013	0.146	0.115	0.240
Lípidos	90	151	134	156	156	5	<0.001	0.223	0.089	0.229
Cenizas	124	134	136	132	139	1	0.657	0.614	0.924	0.735
<i>Músculo (g/kg)</i>										
Humedad	---	738	740	740	747	2	---	0.184	0.226	0.502
Proteína	---	811 ^b	829 ^a	825 ^{ab}	829 ^a	4	---	0.045	0.150	0.162
Lípidos	---	97 ^{az}	78 ^{ay}	74 ^{by}	69 ^{by}	6	---	0.001	<0.001	0.026
Cenizas	---	129 ^y	126 ^y	152 ^z	137 ^z	6	---	0.170	0.024	0.371
<i>Hígado (g/kg)</i>										
Humedad	---	690	691	689	699	2	---	0.358	0.498	0.450
Proteína	---	518	509	527	551	9	---	0.628	0.115	0.276
Lípidos	---	297 ^z	277 ^z	235 ^y	222 ^y	17	---	0.330	0.006	0.827
Cenizas	---	101	76	87	100	6	---	0.650	0.657	0.163

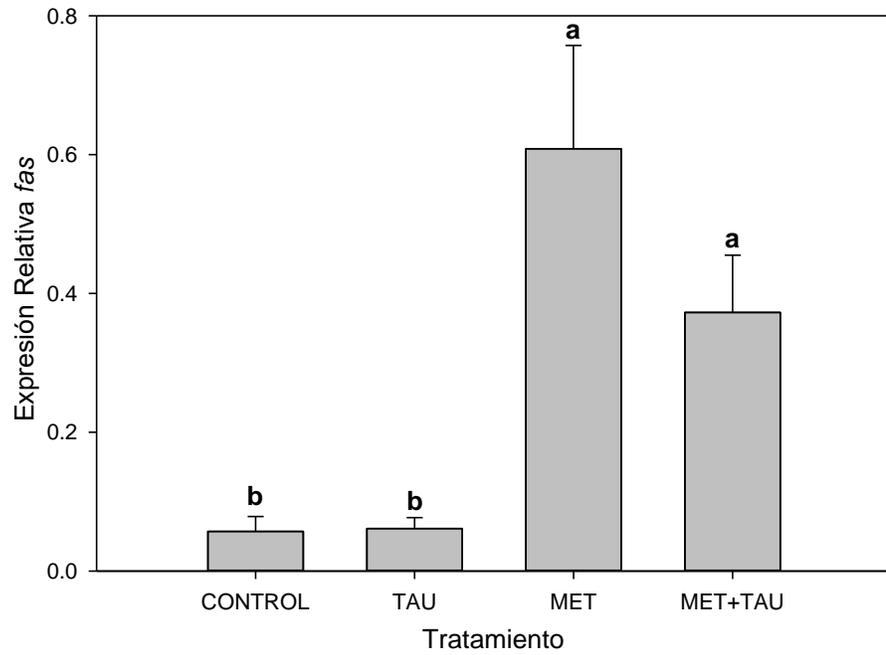


Figura 1. Expresión relativa de ácido graso sintasa (*fas*) en juveniles *S. dorsalis* por tratamiento dietético (n=9). Las diferentes letras representan valores significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Discusión

El valor de la taurina en la nutrición de *Seriola sp.* ha sido ampliamente investigado y reportado como nutricionalmente esencial para *S. quinqueradiata* y *S. lalandi* (Jirsa *et al.*, 2014). Salze *et al.* (2017) reportaron un requerimiento de taurina del 0.26 % para lograr el máximo crecimiento y eficiencia en la acumulación de proteína de los juveniles de *S. lalandi* (4.89 g). Adicionalmente, los autores mencionados enfatizaron que el excedente de taurina es desperdiciado en particular a niveles de suplementación por encima de 0.64 %. Es sabido que la suplementación de taurina en la dieta mejora el rendimiento de *Seriola sp.* (Jirsa *et al.*, 2014; Salze *et al.*, 2017). A pesar de que el presente estudio evaluó el rendimiento de *S. dorsalis* (antes *S. lalandi*; Martínez-Takeshita *et al.*, 2015), éste debería exhibir requerimientos nutricionales similares, incluyendo a la taurina, tal como se encontró para *S. lalandi*. De hecho, nuestros hallazgos demostraron que los juveniles de jurel alimentados con alimentos suplementados con taurina superaron significativamente a aquellos alimentados con las dietas MET y CONTROL. Pese a que la suplementación de metionina o cisteína (precursores de la taurina) podrían ser un medio eficiente para algunas especies, para otras no lo es; y aparentemente a este taxón no le funciona del mismo modo que si se le suplementa con taurina intacta en la dieta (Jirsa *et al.*, 2014). De manera similar, nuestros resultados no indicaron beneficio alguno de la inclusión de metionina en la dieta para promover el rendimiento. En efecto, los peces alimentados con la dieta MET exhibieron numérica, pero no estadísticamente, crecimiento reducido comparado con aquellos alimentados con la dieta CONTROL. Esto podría ser explicado por el gasto de energía en procesos metabólicos que involucran al excedente de metionina.

Se ha documentado el efecto de la taurina en la composición proximal del tejido, en particular el contenido lipídico debido a su efecto en el metabolismo de lípidos (Cantáfora *et al.*, 1991; Chou *et al.*, 2012). Aunque algunos estudios reportaron que no hubo efecto de la taurina en el contenido lipídico del tejido (Johnson *et al.*, 2015), otros demostraron reducción (Espe *et al.*, 2012) en el contenido de lípidos de hígado y músculo. Nuestros resultados indicaron que los tratamientos dietéticos influenciaron la composición proximal de los tejidos del hígado y músculo (Cuadro 8). En general, la taurina en la dieta redujo el contenido lipídico en el hígado, mientras que en el músculo mostró un efecto sinérgico de la taurina con la metionina, disminuyendo igualmente el nivel de lípidos. El mecanismo con el cual la taurina incrementa o reduce el contenido de lípidos podría estar asociado con los cambios en las clases de lípidos que ocurren en el hígado. Cantáfora *et al.* (1991) sugirió la disminución en el contenido de lípidos en el hígado gracias a la conversión de ácidos grasos libres a triglicéridos. Además, la taurina también está involucrada en la síntesis de sales biliares, las cuales son compuestos esenciales para la digestión y absorción de lípidos (para más detalles ver la revisión por Salze *et al.*, 2017).

Respecto a la composición de ácidos grasos, los perfiles de ácidos grasos generalmente imitaron la composición de ácidos grasos de la dieta (Cuadro 2) y diferentes tejidos fueron modificados de manera distinta por la metionina y taurina en la dieta. Por ejemplo, el cuerpo entero se vio significativamente afectado por la metionina dietética, reduciendo los niveles de LC-PUFAs e incrementando SFAs, mientras que la taurina

disminuyó a 20:5n-3, 22:6n-3 y LC-PUFA. La literatura sobre el efecto de la taurina en la composición de ácidos grasos es escasa, en particular en la acuicultura. La mayor parte de los esfuerzos en la investigación se han dedicado a la digestión y absorción de lípidos y los pocos estudios en el metabolismo de lípidos se han realizado con animales terrestres. El hallazgo más interesante es la reducción de ácidos grasos omega-3, en particular LC-PUFAs en los peces alimentados con dietas suplementadas con taurina. Una posible razón es que dado que los peces alimentados con la dieta suplementada con taurina mostraron un mejor rendimiento y convirtieron de manera más eficiente que aquellos a quienes se les alimentó con otros tratamientos, ingirieron menos alimento y consecuentemente consumieron menos LC-PUFAs comparados con otros tratamientos. Asumiendo que todos los LC-PUFA fueron absorbidos y retenidos con la misma eficiencia, los peces que consumieron más alimento por unidad en ganancia en peso corporal, entonces depositaron más LC-PUFA que aquellos con un consumo más bajo de alimento. Otra posible razón es el resultado del metabolismo de ácidos grasos inducido por una biodisponibilidad de taurina más alta.

Generalmente, la magnitud en la modificación de los perfiles de ácidos grasos varía entre los tejidos con base en la relevancia que representa la composición de los ácidos grasos en la estructura de los tejidos u órganos o su funcionalidad fisiológica. La composición de los tejidos centrales (por ejemplo cerebro y ojo) que son más remotos metabólicamente y que dependen fuertemente de los LC-PUFAs para la integridad estructural de las membranas celulares y otras funciones, tiende a ser más conservativa que la composición de los tejidos periféricos (por ejemplo, hígado y músculo), que están más

íntimamente relacionados a procesos metabólicos que son menos estrictos en términos de la regulación de la composición de las membranas celulares o de otros depósitos lípidos (Trushenski *et al.*, 2011). Entre tratamientos dietéticos el cuerpo entero presentó la mayor distorsión en la composición de ácidos grasos, seguido del hígado y el músculo; el cuerpo entero (Djh = 3.0-7.9), hígado (Djh= 1.5-4.6), y músculo (Djh= 1.5-3.0).

La presencia de ciertos ingredientes regula la expresión de los genes que intervienen en el proceso de transcripción lipogénica, síntesis de colesterol y homeostasis lipídica en el hígado, como es el caso de *fas* (Kim *et al.*, 2017; Shukla *et al.*, 2006). Betancor *et al.* (2017), reportó que un cambio similar en los niveles de expresión de genes relacionados con la síntesis de fosfolípidos en el atún aleta azul. Los cambios en los niveles de expresión de *fas*, se incrementan significativamente con la presencia de MET en la dieta para ambos tratamientos. Del mismo modo, el consumo de metionina y/o el incremento en las concentraciones de taurina provocado por un consumo de metionina se han reportado para salmón (Espe *et al.*, 2012). Por otro lado, la suplementación de taurina también ha tenido un efecto positivo en la expresión de genes del crecimiento en hígado, como lo es *igf1*, con su consecuente aumento en crecimiento en el lenguado *Paralichthys olivaceus* (Kim *et al.*, 2017).

Conclusión

En resumen, las dietas suplementadas con taurina superaron a las dietas MET y CONTROL, y dicho nutriente debería ser agregado a las dietas para jurel. La adición de metionina como un precursor de la taurina no fue eficiente como lo fue el proporcionar taurina intacta. En términos de la composición de ácidos grasos, los perfiles de ácidos grasos generalmente imitaron la composición de ácidos grasos de la dieta y diferentes tejidos fueron modificados de manera distinta por la metionina y taurina en la dieta. El hallazgo más interesante de la presente tesis fue la aparente reducción de ácidos grasos omega-3, en particular LC-PUFAs en los peces alimentados con dietas suplementadas con taurina, tema que se requiere más investigación para conocer la interferencia o la disponibilidad de la taurina en la acumulación de LC-PUFA.

Referencias

- Álvarez, T.P., Soto, F., Aviles, Q.S., Díaz, L.C. y Treviño, C.L. (2012). Panorama de la investigación y su repercusión sobre la producción acuícola en México. Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca – Instituto Nacional de la Pesca.
- Betancor, M.B., Ortega, A., de la Gándara, F., Tocher, D.R., Mourente, G., 2017. Lipid metabolism-related gene expression pattern of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) larvae fed on live prey. *Fish Physiol. Biochem.* 43, 493–516.
- Cantáfora, A., Blotta, I., Rossi, S. S., Hofmann, A. y Sturman J.A. (1991). Dietary taurine content changes liver lipids in cats. *Journal of Nutrition*, 121: pp. 1522-1528.
- CESAIBC (Comité Estatal de Sanidad Acuícola e Inocuidad de Baja California). (2016). Directorio de Productores de Peces. Recuperado de: <http://www.cesaibc.org/sitio/directorio.php>
- Chou, C., Chang, Y., Tzang, B., Hsu, C., Lin, Y., Lin, H. y Chen, Y. (2012). Effects of taurine on hepatic lipid metabolism and anti-inflammation in chronic alcohol-fed rats. *Food Chemistry*, 135(1), pp.24-30.
- Espe, M., Ruohonen, K. y El-Mowafi, A. (2011). Effect of taurine supplementation on the metabolism and body lipid-to-protein ratio in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Research*, 43(3), pp.349-360.
- Fang, Y.Z., Yang, S. y Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 8, 872-879.
- FAO. (Food and Agriculture Organization) (2014). The state of world fisheries and aquaculture 2013. FAO Fisheries and Aquaculture Department, The Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- FAO. (Food and Agriculture Organization) (2015). Food outlook: biannual report on global food market. FAO Fisheries and Aquaculture Department. The Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.

- FAO. (Food and Agriculture Organization) (2016). The state of world fisheries and aquaculture 2015. FAO Fisheries and Aquaculture Department, The Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Jirsa, D., Stuart, K., Salze, G., Rhodes, M., Davis, D. y Drawbridge, M. (2014). Limiting Amino Acids in Practical Diets for California Yellowtail, *Seriola lalandi*. Journal of the World Aquaculture Society, 45(6), pp.681-690.
- Johnson, R., Kim, S., Watson, A., Barrows, F., Kroeger, E., Nicklason, P., Goetz, G. y Place, A. (2015). Effects of dietary taurine supplementation on growth, feed efficiency, and nutrient composition of juvenile sablefish (*Anoplopoma fimbria*) fed plant-based feeds. Aquaculture, 445, pp.79-85.
- Kim, J.-M., Malintha, G., Gunathilaka, G., Lee, C., Kim, M.-G., Lee, B.-J., Kim, J.-D., Lee, K.-J., (2017). Taurine supplementation in diet for olive flounder at low water temperature. Fish. Aquat. Sci. 20, 1–8.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Methods, 25,402-408.
- Martinez-Takeshita, N., Purcell, C., Chabot, C., Craig, M., Paterson, C., Hyde, J. y Allen, L. (2015). A Tale of Three Tails: Cryptic Speciation in a Globally Distributed Marine Fish of the Genus *Seriola. copeia*, 103(2), pp.357-368.
- Omura, Y. E., Inagaki, M., (2000). Immunocytochemical localization of taurine in the fish retina under light and dark adaptations. Amino Acids 19, 593–604.
- ONU. United Nations (2015) World population prospects: The 2015 revision. Department of Economic and Social Affairs. Population Division, New York.
- SAGARPA. (2014). Anuario estadístico de acuicultura y pesca. <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>
- Salze, G.P. y Davis, D.A. (2015). Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. Aquaculture, 437:215-229.

- Salze, G., Stuart, K., Jirsa, D., Davis, D. y Drawbridge, M. (2017). Quantitative Dietary Taurine Requirement for California Yellowtail, *Seriola lalandi*. *Journal of the World Aquaculture Society*.
- Shukla, A., Bettzieche, A., Hirche, F., Brandsch, C., Stangl, G.I., Eder, K., 2006. Dietary fish protein alters blood lipid concentrations and hepatic genes involved in cholesterol homeostasis in the rat model. *Br. J. Nutr.* 96, 674–682.
- Tacon, A.G.J. y Metian, M., (2015). Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 23, 1-10.
- Turchini, G.M., Francis, D.S. y De Silva, S.S. (2007). A whole body, in vivo, fatty acid balance method to quantify PUFA metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation). *Lipids*, 42:1065-1071.
- Turchini, G.M. y Torstensen, B.E., Ng, W-K. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev Aquacult.* 1:10-57.