



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Respuestas fisiológicas de dos líneas de trucha arcoíris
(*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas con proteínas y lípidos
de origen vegetal.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO
EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

PRESENTA:
LEONARDO TELLEZ MATEOS

DIRECTOR DE TESIS
DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

COMITÉ TUTOR

DRA. GABRIELA GAXIOLA CORTÉS
UMDI-SISAL
DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ
CIAD-MAZATLÁN
DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ
UJAT
DRA. MARÍA CRISTINA CHÁVEZ SÁNCHEZ
CIAD-MAZATLÁN

MÉXICO, 2016.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Contenido

Resumen	4
Introducción	5
Antecedentes	13
Justificación	16
Hipótesis	17
Objetivo general	18
Objetivos particulares	18
Materiales y Métodos	19
<i>Obtención de organismos</i>	19
<i>Formulación de las dietas</i>	19
<i>Prueba de alimentación</i>	22
<i>Medición del crecimiento</i>	23
<i>Determinación de la digestibilidad</i>	23
<i>Determinación de la excreción de fósforo y nitrógeno y consumo de oxígeno</i>	24
<i>Actividad de la tripsina</i>	24
<i>Concentración de hormonas de crecimiento</i>	25
<i>Análisis químico proximal</i>	25
<i>Análisis estadístico</i>	25
Resultados	27
<i>Parámetros productivos</i>	27
<i>Indicadores fisiológicos</i>	29
<i>Excreción y respiración</i>	33
<i>Hormonas de crecimiento</i>	36
<i>Análisis Químico – Proximal</i>	39
Discusión	41
Conclusiones	48
Referencias	50
Anexos	60

Resumen

Se realizó una prueba de alimentación de ochenta días en juveniles de trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* de dos poblaciones, una proveniente del CPA El Zarco y otra de una granja particular del municipio de Cahuacán, Estado de México “Tres Piedras” a fin de evaluar las respuestas fisiológicas que presentan al ser alimentadas con dos dietas formuladas a base de proteína y lípidos de origen vegetal. La fuente de proteína empleada fue aislado de proteína de soya en un 75 % y 90 % y como principal fuente de lípidos se empleó aceite de linaza en un 25 %. Como dieta de referencia se empleó la dieta comercial Api-Trucha 1 Malta-Cleyton®. El peso inicial de los organismos fue 249 ± 0 mg ind⁻¹ en el Zarco y 271 ± 0 mg ind⁻¹ en Tres Piedras. Al término de la prueba de alimentación se evaluaron parámetros productivos (ganancia en peso, tasa específica de crecimiento, coeficiente térmico de crecimiento, etc.), indicadores fisiológicos (factor de condición, relación peso-longitud, índice hepatosomático, digestibilidad aparente de la proteína, actividad de la tripsina, hormonas de crecimiento, etc.), composición química proximal (porcentaje de proteína y lípidos en músculo e hígado) excreción de nitrógeno amoniacal y fósforo, así como consumo de oxígeno.

Los resultados indican que los niveles de hormonas de crecimiento y actividad de la tripsina no parecen verse afectados por las dietas empleadas, de forma similar, en los parámetros de excreción y consumo de oxígeno parece no influir la dieta. Respecto a los efectos con probable causa de la población se tiene el consumo de oxígeno, así como una mejor digestibilidad de la proteína vegetal. De igual forma la población del Zarco mostró una gran variación en algunos de los parámetros medidos, efecto atribuible a la herencia y/o sensibilidad al estrés. Existen diferencias significativas en el coeficiente térmico de crecimiento para los organismos alimentados con un 75 % de APS de ambas poblaciones, por lo que esta dieta puede ser candidata a ser sustituida a reemplazar una dieta comercial.

Introducción

"En una sociedad democrática, todos deben tener conocimiento científico básico que les permita tomar decisiones informadas en el futuro." -Stephen Hawking-

La acuicultura es una actividad económica establecida sobre la cría, reproducción y cosecha de organismos acuáticos de importancia económica o científica bajo condiciones controladas en cualquier medio acuático (NOAA, 2015). Producto de una relación multidisciplinaria con la evaluación de la calidad del agua, la nutrición y el estudio de patologías es la actividad productiva que más ha crecido en los últimos 20 años, aportando cerca del 42% de la producción acuícola mundial del año 2011 (FAO, 2012).

En México la acuicultura produjo un total de 254,026 toneladas el año 2012 que comprende a 61 especies distintas. En la región central de nuestro país se cultivan tres especies con fines alimenticios, alcanzando de 120 a 150 kg/ha/año, estas especies son tilapia *Oreochromis spp.*, carpa *Cyprinus caprio* y trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (DPA FAO, 2014). Particularmente el volumen de producción de la trucha arcoíris la ubica en la posición número 18 de producción pesquera total y su valor económico la ubica en el sexto lugar. En 2012 tuvo una producción máxima de 9,781 toneladas de las cuales 7,026 fueron cultivadas, correspondiente con un 71.8 % y en 2013 la producción fue de 9,757 toneladas de las cuales 6,700 fueron cultivadas, es decir el 68.66 %. (CONAPESCA, 2012, 2013). El costo promedio por kilo durante la semana santa fue de \$108.33 en 2012; \$139.71 en 2013 y \$136.73 en 2014. (PROFECO, 2014; Fernández-Blanes, 2013; Silva, 2012)

La acuicultura y en particular el cultivo de salmónidos ha empleado aceite y harina de pescado como principal fuente de proteínas y lípidos para la alimentación de los organismos, lo que a futuro supone una dificultad del cultivo debido al incremento de costos de estas materias primas por causa de la sobrepesca (Olsen et al. 2003; Hardy, 2010) que de continuar al ritmo que ha tenido, será incapaz de satisfacer el requerimiento pesquero hacia el año 2048 (Worm et al, 2006).

Otro punto a tener en cuenta en el cultivo de trucha arcoíris es la eutrofización de sistemas acuáticos cercanos, causada por una elevada concentración de productos orgánicos como el amonio, provenientes del desagüe de las granjas, por lo cual en la acuicultura intensiva se buscan propuestas de alimentos “*amigables con el ambiente*” cuyo aprovechamiento sea superior a los tradicionales y se deseche una menor cantidad de productos orgánicos; dichos alimentos deben provenir de fuentes abundantes, ser de bajo costo, que no compitan con el consumo humano directo y que no tengan un impacto tan fuerte en el ambiente como la harina y aceite de pescado (Gatlin et al. 2007).

La formulación de las dietas es el punto central de la acuicultura, de esto depende el rendimiento del cultivo, pues una correcta nutrición verá reflejado un desarrollo eficiente y un rápido crecimiento de los organismos y por otro lado, el alimento equivale al 50-60% de los costos de producción, por lo que se debe asegurar una óptima formulación de los requerimientos de la especie y una constante fuente de ingredientes (Nates, 2015).

Entre los mayores componentes de los organismos animales se encuentran las proteínas, cuyas funciones principales son estructura y regulación de reacciones bioquímicas (Hill, 2012). Las proteínas a su vez están compuestas por aminoácidos, destacándose los esenciales que son aquellos que los organismos no pueden sintetizar y obtienen únicamente en la dieta, de la proporción de estos depende la calidad de la proteína como alimento y cada especie tiene requerimientos específicos.

La elección común como fuente alterna de proteína para la elaboración de dietas en acuicultura es la soya debido a su alto contenido proteico, cercano al 36% (USDA 2016) y a su alta digestibilidad (Dersjant-Li, 2002). Existen tres presentaciones de proteína de soya en el mercado que dependen de su pureza y el costo: Harinas y molidos con un 40-54% de proteína que mantienen remanente de aceites, isoflavonoides, saponinas y oligosacáridos antinutricionales; Concentrados de soya con un 70% de proteína a la cual se le han removido gran parte de azúcares solubles en alcohol pero con prevalencia de oligosacáridos insolubles; y los Aislados de soya

con un 90% de proteína los cuales tienen un menor porcentaje de oligosacáridos y un variado porcentaje de isoflavonas (Singh et al. 2008). No obstante, las ventajas de sustituir la proteína de pescado por proteína de soya, existe el inconveniente de tener que suplementar aminoácidos azufrados metionina-cisteína para alcanzar el requerimiento de los organismos debido al bajo contenido de estos en la soya y otras fuentes vegetales (Dersjant-Li, 2002) como puede observarse en la siguiente tabla.

Tabla 1. Comparativo del requerimiento de aminoácidos esenciales en trucha arcoíris y el contenido de distintas fuentes de proteína expresado en porcentaje total, requerimiento y datos de pasta de soya y concentrado de soya fueron obtenidos del NRC 2011. Los datos expresados para aislado de soya y harina de pescado, fueron obtenidos en este estudio.

Aminoácido	Requerim.	Pasta de soya	Concentrado de soya	Aislado de soya	Harina de pescado
Metionina	0.7	0.53	0.81	1.068	2.055
Met + Cis	1.1	1.08	1.70	2.105	2.668
Lisina	2.4	2.22	3.93	5.174	5.685
Treonina	1.1	1.41	2.47	3.095	3.042
Triptófano	0.3	0.48	0.84	-----	0.838
Arginina	1.5	2.60	4.64	6.434	4.053
Isoleucina	1.1	1.61	2.94	4.000	3.041
Valina	1.2	1.68	3.06	4.032	3.583
Histidina	0.8	0.96	1.58	2.157	2.654
Fenilalanina	0.9	1.83	3.28	4.462	2.852

Por este motivo al formular una dieta es necesario tener en cuenta el concepto de proteína ideal, el cual se esquematiza por el modelo de barril de Liebig (Figura 1) en el cual los organismos alimentados con una concentración sub-óptima de aminoácidos limitantes, en este caso azufrados, consumirá más proteína de lo

necesario para satisfacer el requerimiento, aumentando los costos de producción y el nitrógeno excretado.

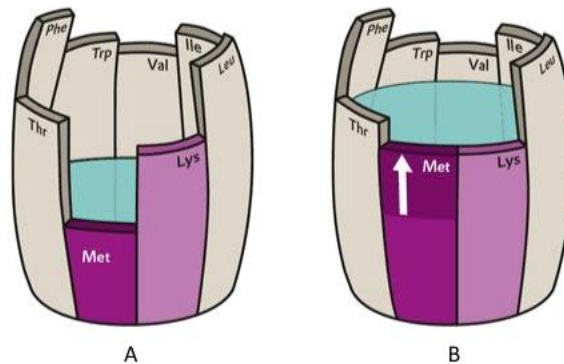


Figura 1. Esquematación del modelo de barril de Liebig donde el nivel del agua representa la proteína disponible de acuerdo al contenido de aminoácidos. A una mayor cantidad de aminoácidos limitantes, mayor es la proteína disponible y por tanto, menor el requerimiento de esta.

Los aminoácidos azufrados metionina-cisteína intervienen en muchas reacciones metabólicas, son importantes en la estructura y plegamiento de proteínas, participan como donadores de electrones en centros reactivos de enzimas y sus interconversiones pueden formar metabolitos intermedios del ciclo del ácido cítrico. La metionina tiene un amplio uso en las reacciones metabólicas, es el aminoácido que inicia la síntesis de proteínas en eucariotas y como residuo se ancla a núcleos hidrofóbicos en proteínas. La metionina es convertida a S-adenosilmetionina (SAM) que es una molécula muy versátil en las rutas metabólicas, participando en la síntesis de creatina, epinefrina, melatonina, espermina y espermidina. La SAM puede ser convertida a S-adenosilhomocisteína (SAH) y ésta a homocisteína la que a su vez puede ser reconvertida a metionina o cisteína (Brosnan & Brosnan, 2006).

La taurina es un derivado del metabolismo de los aminoácidos azufrados vía cisteinosulfinato-descarboxilasa (CSD), tiene un papel significativo en el metabolismo de ácidos biliares, también participa en el transporte de calcio y en regulación osmótica. Es un aminoácido libre que no se incorpora a las proteínas, constituye del 30 – 50% de aminoácidos libres en los tejidos, es esencial en la regulación y control de colesterol en suero sanguíneo, como antioxidante inhibe la

peroxidación lipídica. Al igual que la glicina, se conjuga con los ácidos biliares, formando los ácidos taurocólico y tauroquenodeoxicólico para incrementar el metabolismo lipídico (El-Sayed, 2013).

Otro punto importante sobre la taurina es que en el cultivo de especies carnívoras de importancia comercial a las cuales se les hacen sustituciones totales de harina y aceite de pescado se han presentado un conjunto de trastornos que incluyen anemia, mal aprovechamiento del alimento, lento crecimiento y la acumulación de biliverdina en el hígado, causando pigmentación verde, por lo que se la ha llamado “síndrome del hígado verde” causado por una deficiencia de taurina que deriva en un mal metabolismo de los lípidos y una sobreproducción de ácidos biliares (Takagi, et al. 2005).

Los ácidos biliares se forman por un proceso multienzimático de la oxidación del colesterol vía citocromo P450 formando los ácidos cólico y quenodesoxicólico transformando al colesterol de una molécula insoluble y sin carga constituyente de membranas a una molécula con capacidad de ionizarse, anfipática, soluble en agua y con capacidad de disolver membranas, por esta razón son fundamentales en la emulsión de los ácidos grasos, actúan como detergentes y disminuyen la tensión superficial de las grasas formando micelas. Son sintetizados en el hígado en forma de ácidos biliares primarios, posteriormente se conjugan con taurina y glicina para formar los ácidos biliares secundarios y son secretados al lumen del duodeno por la vesícula biliar. El pka de los ácidos biliares sin conjugar es entre 5 y 6.5, mientras que el pH del duodeno es de 3 a 5, cuando los ácidos son conjugados con los aminoácidos su pka desciende de 1 a 4 y se activan metabólicamente para el catabolismo lipídico. Son reciclados y resecretados por la circulación entero-hepática, no obstante la mayor parte sigue siendo eliminada en las heces (Hoffman, 1999).

Los lípidos son los siguientes componentes en orden de importancia después de las proteínas y comprenden un muy diverso grupo de moléculas de cadenas hidrocarbonadas saturadas o insaturadas no polares con variadas funciones

destacándose las estructurales y de almacenaje de energía (Hill, 2012). Los lípidos aportan cerca de 9.44 kcal/ g equivalentes a 39.5 kJ/g.

En nutrición los ácidos grasos se consideran de tres tipos: Saturados (sin dobles ligaduras), monoinsaturados (con una doble ligadura), poliinsaturados “PUFA’s” (con más de 2 ligaduras) ó altamente insaturados “HUFA’s” (más de 4 ligaduras). Los peces marinos poseen un contenido superior al 30% en HUFA’s n-3 y su requerimiento es mayor al de n-6. La razón de altos requerimientos de n-3 es para mantener la fluidez de las membranas a temperaturas bajas a su vez, el ácido araquidónico $C_{20:4n-6}$ es precursor en la síntesis de prostaglandinas, fundamentales en reproducción y osmorregulación (Molina-Poveda, 2015).

Los PUFA’s resultan esenciales para la mayoría de los vertebrados y el aceite de pescado a diferencia de los aceites vegetales es rico en PUFA’s de cadena larga “LC-PUFA’s” de C_{20} o mayor como el DHA $C_{22:6n-3}$ y EPA $C_{20:5n-3}$ (Wijekoon 2015). Estos PUFA’s son producidos por los organismos unicelulares del fitoplancton y son acumulados a lo largo de la cadena alimenticia, su biosíntesis tiene lugar en el retículo endoplásmico liso y consta de introducir una doble ligadura entre los carbonos de los ácidos grasos monoinsaturados por medio de enzimas acil-CoA-desaturasas, también llamadas Δ^x desaturasas, con un superíndice de acuerdo al sitio en que realizan la doble ligadura, estas enzimas y las elongasas no son expresadas en todos los vertebrados y es la causa de que los PUFA’s sean esenciales. (Monroig, et al. 2013).

El requerimiento de ácidos grasos es diferente en especies marinas y dulceacuícolas, los peces de agua dulce pueden sintetizar (desaturar y elongar) LC-PUFA’s a partir de PUFA’s de cadena corta C_{18} como el α -linolénico $C_{18:3n-3}$ presente en aceites vegetales como linaza, soya y nuez de forma que es posible disminuir la cantidad de aceite de pescado en la dieta de los peces dulceacuícolas (Tacon 2005, De Filippis 2006). Esta capacidad de desaturación es debida a la actividad de Δ^5 y Δ^6 y que se ve disminuida en peces marinos. (Mourente & Tocher, 1993 y Ghioni et al, 1999).

Los PUFA's que dominan los aceites vegetales son el α -linolénico o ALA en n-3 y el linoléico LA en n-6. Los que mejor perfil tienen en PUFA's y por esto mayor potencial en acuicultura son los de linaza, soya y canola no obstante su contenido de LC-PUFA's es despreciable como puede observarse en la siguiente tabla.

Tabla 2. Comparativo del requerimiento de ácidos grasos en trucha arcoíris y el contenido de ácidos grasos en distintos aceites vegetales y aceite de pescado expresados en porcentaje total. Los datos fueron obtenidos del NRC 2011,

Ácido graso	Requerim.	Linaza	Canola	Soya	Anchoa	Bacalao
18:3n-3 ALA	0.7 – 1	53.3	12	6.8	0.8	0.6
18:2n-6 LA	1	12.7	20.2	51	1.2	1.4
LC-PUFA EPA DHA	0.4 – 0.5	-----	-----	-----	27.4	25.5

Es así que una vez establecida la importancia de la nutrición para la acuicultura se comenzó a buscar marcadores endócrinos que mostraran fiablemente la respuesta del crecimiento de los organismos en interacción de dieta con el ambiente y las variedades genéticas, proponiéndose al *Factor de Crecimiento Parecido a la Insulina 1* o *IGF-1*, cuyo papel en la regulación del crecimiento en otros vertebrados ya era conocido en el denominado “Eje GH-IGF-1” (Picha et al. 2008) esquematizado en la Figura 2. Salvo pequeñas diferencias entre peces y otros vertebrados el eje GH-IGF-1 comienza con estímulos ambientales que activan el hipotálamo y ésta a la glándula pituitaria la liberación de *GH Hormona del Crecimiento* hacia el hígado y tejido músculo-esquelético donde se activa el IGF-1 promoviendo la replicación y proliferación celular de estos tejidos *i.e.* crecimiento, el exceso de IGF-1 inhibe la acción de GH. No obstante de la gran cantidad de información generada recientemente aún presenta discordancias y es necesaria un mayor esfuerzo en el estudio de estas hormonas. (Reinecke et al. 2005, Picha et al. 2008, Beckman 2011).

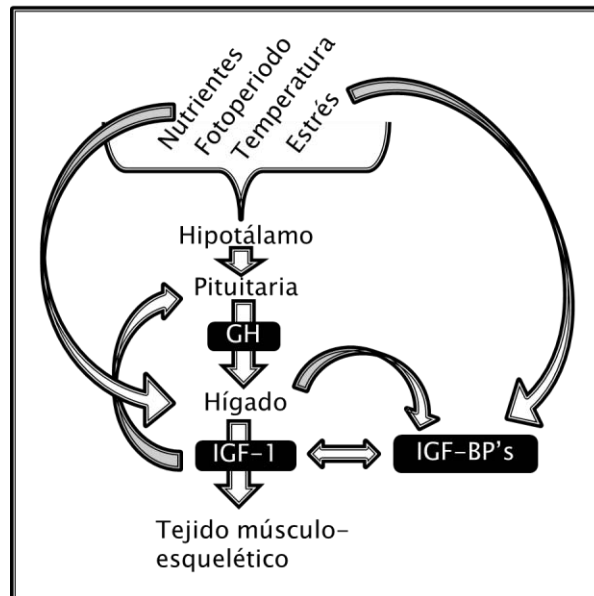


Figura 2. Esquematización del eje GH-IGF1 que modula el crecimiento en peces, pese a seguir un eje de acción, distintos estímulos pueden interferir en distintos puntos del proceso. Tomado y modificado de Picha et al. 2008

Antecedentes

Los antecedentes mostrados indican que es posible obtener buenos resultados con la sustitución de harina de pescado por proteína procesada de origen vegetal, que la suplementación con aminoácidos azufrados es necesaria en la elaboración de dietas con proteína vegetal y que aún es necesario continuar investigando los mecanismos endócrinos que regulan el crecimiento.

Boccignone et al. (1989) indican que trucha arcoíris alimentada con mezclas de harina de soya y pescado con maíz extruido, aprovechan eficientemente carbohidratos simples y que una reducción de proteína de pescado 20% no afecta el factor de conversión alimenticia.

Cowey et al. (1992) suministraron dietas con distintas concentraciones de metionina a juveniles de trucha arcoíris, sus datos muestran que el requerimiento de metionina no debe ser superior al 0.76 % en la dieta o 1.9% de la proteína.

Kaushik et al. (1995) realizaron sustituciones parciales y totales de harina de pescado por harina y concentrado de soya suplementada con metionina en juveniles de trucha arcoíris, indicando que las sustituciones superiores al 33% con concentrado de soya no afectan el crecimiento, sin embargo, sustituciones superiores al 50% con harina de soya afectaron el crecimiento.

Médale et al. (1998) midieron la tasa de ingesta y excreción y excreción de fósforo y nitrógeno en juveniles de trucha arcoíris con diferentes niveles de concentrado de proteína de soya en la dieta, resultando en bajas tasas de ingesta para las sustituciones totales y una elevada excreción de nitrógeno para las dietas con sustituciones totales sin metionina.

Mambrini et al. (1999) evaluaron los efectos de suministrar dietas con alto contenido lipídico extruidas con sustituciones altas y totales de concentrado de proteína de soya y suplementación con metionina. Encontrando que niveles de sustitución superiores al 70% reducen la digestibilidad de los lípidos y el crecimiento.

Storebakken et al. (2000) reportan que no existen efectos negativos en la sustitución de la sustitución del 75% de harina de pescado por harina de soya y se reporta la reducción en la excreción de fósforo.

Reinecke et al. (2005) sintetizaron información generada hasta el momento de los factores de crecimiento en teleósteos generado del taller “Hormonas de crecimiento y factores de crecimiento similares a la insulina en peces”.

Gaylord et al. (2007) realizaron pruebas en trucha arcoíris con dietas de origen vegetal sustituyendo totalmente la harina de pescado y suplementando con taurina y metionina en tres niveles, reportando mal crecimiento y una baja expresión de IGF-1 en dietas con Metionina mientras que las dietas con Taurina presentaron mayor crecimiento.

Picha et al. (2008) revisaron las diferentes posturas respecto a la aplicación de GH, IGF-1 e IGF-BP como biomarcadores de crecimiento en peces, generando una guía de la dinámica endócrina de los peces.

Panserat et al. (2009) reportan que el uso de harina de soya y gluten de maíz y trigo, así como una mezcla de aceites de linaza, palma y colza, afectaron el crecimiento debido a un bajo en el consumo de alimento y en la eficiencia de proteína en trucha arco iris.

Beckman (2010) comparó diversos estudios sobre factores de crecimiento para obtener relaciones concordantes y discordantes que guíen futuras investigaciones donde interactúen crecimiento, factores endócrinos y el ambiente.

Meza et al. (2010) realizaron sustituciones totales con concentrado de proteína de soya y aislado de proteína de soya adicionada con proteasa y metionina, mencionando que la dieta con mejor desempeño y reducción de nitrógeno y fósforo excretados es el concentrado de proteína soya adicionada con proteasa y metionina.

De acuerdo a Cruz et al. (2011) en dietas con sustituciones del 50, 75 y 100% de harina de pescado por concentrado de soya adicionado con fitasa para trucha

arcoíris se obtiene un resultado similar en crecimiento al de las dietas comerciales empleando el 75% de sustitución además de la reducción en el aporte de nutrientes de desecho.

Boonyung et al. (2012) suplementaron dietas con un alto contenido de concentrado de proteína de soya, con metionina hidroxí-análoga (MHA) y taurina encontrando un mejor crecimiento en aquellas con MHA que MHA + taurina, concluyendo que la taurina no tiene ningún efecto en el desempeño del crecimiento y que no es requerida en dietas con MHA.

Hernández-Flores (2014) Realizó adiciones de proteasa, fitasa y levadura a una sustitución de harina de pescado con un 75% de concentrado de proteína de soya y 25 % polvo de *Spirulina*, indicando que la dieta con mejor desempeño fue la adicionada con proteasa y fitasa durante los primeros 75 días de cultivo ya que posteriormente el crecimiento se ve afectado.

Adiciones de fitasa y levadura en la dieta con sustituciones del 75% con harina de soya realizada por Arvizu-Sánchez (2014) revelaron no tener diferencias significativas entre sí pero si mostraron un efecto similar a la dieta comercial los primeros 75 días de cultivo con un efecto negativo sobre el crecimiento posterior a este tiempo.

Aguillón- Hernández (2015) Realizó dos pruebas de alimentación con diferentes tallas de trucha arcoíris, empleando aislado de proteína de soya en combinación con polvo de spirulina las cuales suplementó con taurina – metionina en partes crecientes, obteniendo un mejor desempeño de crecimiento en las dietas con 0.75 – 0.25 de Taurina – Metionina y con una menor deposición lipídica en el hígado, pero con una respuesta inmune más deficiente que las otras dietas.

Justificación

El cultivo de trucha arcoíris es una actividad económica con un gran desarrollo y potencial en el centro de México, sin embargo, el impulso de esta actividad requiere enfrentar dos factores de riesgo: el uso sustentable del agua y el incremento en el costo del alimento; por este motivo, es necesario conocer el desempeño que los organismos tengan con alimentos vegetales alternativos y con una dieta comercial a fin de comparar el aprovechamiento de las dietas y la excreción de compuestos orgánicos, además de ser necesaria la comparación entre distintos linajes con el fin de tener resultados incluyentes para el productor local.

Hipótesis

1. Las dietas con un porcentaje alto en proteínas y lípidos de origen vegetal tienen una calidad similar a las dietas comerciales que emplean harina y aceite de pescado como fuente principal de proteínas y lípidos.
2. Las condiciones alimentarias originales de los organismos o de linaje, influyen en su nutrición, modificando la respuesta que tengan ante determinadas dietas.
3. Dietas con harina y concentrado de soya han disminuido la excreción de Nitrógeno y Fósforo en trucha arcoíris por lo que al emplear aislado de proteína de soya se espera obtener un resultado similar.

Objetivo general

Determinar el efecto de incluir aislado de proteína de soya y aceite de linaza como principales fuentes de proteína y lípidos en las respuestas fisiológicas en crías de dos poblaciones de trucha arcoíris.

Objetivos particulares

- Determinar el efecto del aislado de proteína de soya y aceite de linaza como principales fuentes de proteína y lípidos en la dieta en el crecimiento, digestibilidad aparente de la proteína, composición proximal de diferentes órganos (hígado, músculo), actividad de la tripsina y niveles de hormonas de crecimiento de dos poblaciones de crías de trucha arcoíris.
- Determinar el mejor nivel de inclusión de aislado de proteína de soya en dietas balanceadas para dos poblaciones de crías de trucha arco iris.

Materiales y Métodos

"Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas" - Marie Curie-

Obtención de organismos

Las trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de aproximadamente 20 días después de la eclosión, se obtuvieron organismos de dos poblaciones, una proveniente del Centro de Producción Acuícola "El Zarco", ubicado en el Estado de México y la siguiente población de una granja particular llamada "Tres Piedras" ubicada en el Municipio de Nicolás Romero también del Estado de México. Los organismos se transportaron al Laboratorio de Producción Acuícola de la Facultad de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM y se colocaron en tanques de 1000 L para su aclimatación durante 5 y 4 días. Se alimentaron con dieta comercial "Api-trucha 1" (50% de proteína) Malta-Cleyton® hasta el inicio de la prueba de alimentación. El peso inicial de los organismos fue de $249 \pm 0 \text{ mg ind}^{-1}$ para los de El Zarco y $271 \pm 0 \text{ mg ind}^{-1}$ para los organismos de Tres Piedras.

Formulación de las dietas

Se formularon 2 dietas, reduciendo la harina de pescado en 75 y 90% con aislado de proteína de soya y el aceite de pescado con aceite de linaza en 75%. Las dietas se formularon para cubrir los requerimientos de la especie previamente reportados (NRC, 2011), considerando un porcentaje mínimo de 40% y 10% para proteína y lípidos, respectivamente (Tabla 1). La energía digestible de la dieta se calculó por el método de nutrientes digestibles totales (TND) donde $\text{TND} = \text{La suma de las fracciones del nutriente (Proteica, lipídica, carbohidratos y fibra) multiplicado por su digestibilidad (previo conocimiento de la especie).}$ $\text{ED} = 4.4 \text{ kcal/g} * \text{TND}$.

Las dietas se prepararon de acuerdo a Cruz et al. (2011) mezclando todos los ingredientes en polvo con los aceites y posteriormente con agua hasta obtener una

masa que se hizo pasar en un molino de carne para producir pellets de 5 mm de diámetro los cuales se secaron a 60 °C por 8 horas y se almacenaron a 4 °C hasta su uso. Como referencia se usó la dieta comercial Api-trucha.

Tabla 3. Formulación de las dietas experimentales unidades expresadas en g kg-1

Ingredientes	75 %	90 %	Referencia
Harina de pescado ¹	153	61	Alimento Comercial (Api-trucha 1 pellet, 50% proteína, Malta-Clayton de México)
Aislado de proteína de soya ²	335	422	
Aceite de pescado ³	25	25	
Aceite de linaza ⁴	75	75	
Lecitina de soya ⁵	50	50	
Dextrina amarilla ⁶	100	100	
Mexcla de vitaminas y minerales ⁷	40	40	
Gluten de trigo ⁸	80	80	
Taurina ⁹	7.5	7.5	
Metionina ¹⁰	2.5	2.5	
Celulosa ¹¹	132	137	

¹ Vimifos México S.A. de C.V.

² Proteína cruda 90%, Agrident México S. de R.L. de C.V., México

^{3,4} Drotasa S.A. de C.V., México

⁵ Abastecedora de Productos Naturales, S.A. de C.V., México

^{6,8,9,11} Sigma Aldrich Co. USA

⁷ Micro Rovimix para peces carnivoros, DSM Productos Nutricionales de México

¹⁰ Evonik México S.A de C.V.

Tabla 4. Análisis químico proximal de la dieta, unidades expresadas en porcentaje.

	75 %	90%	Referencia
Energía digestible (kcal/g)	310.8	308.0	> 237.6
% Proteína	42.5 ± 0	44. 5 ± 0	41 ± 0
% Lípidos	12.7 ± 0	11.3 ± 1.5	8.8 ± 0.8
% Ceniza	0.093 ± 0	0.094 ± 0	0.087 ± 0
% Humedad	11.60 ± 1.66	11.61 ± 0.97	8.61± 0.591

Tabla 5. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales, unidades expresadas en porcentaje.

Aminoácido	75 %	90 %	Referencia
Metionina	1.020	0.947	1.011
Cisteína	0.580	0.603	0.563
Met + Cis	1.600	1.550	1.574
Lisina	2.519	2.479	3.354
Treonina	1.708	1.690	1.987
Triptófano	0.570	0.587	0.581
Arginina	2.912	3.093	2.746
Isoleucina	2.109	2.200	1.640
Leucina	3.446	3.544	4.031
Valina	2.134	2.176	2.718
Histidina	1.124	1.115	1.508
Fenilalanina	2.225	2.355	2.275
Glicina	1.980	1.920	2.992
Prolina	2.713	2.830	2.375
Alanina	1.967	1.872	2.988
Aspartato	4.495	4.758	4.377
Glutamato	8.547	9.359	6.209
Serina	2.148	2.259	2.213
Taurina	0.674	0.671	-----

Prueba de alimentación

Se utilizó un sistema de recirculación con tanques de polipropileno de 100 L donde se colocaron aleatoriamente veinticinco crías y cada una de las dietas se dio a grupos por triplicado (Tabla7). Los peces fueron alimentados diariamente con sus respectivas dietas, considerando un 7% de la biomasa total de cada tanque. La ración diaria se dividió en dos porciones, que fueron ofrecidas a las 09:00 y 18:00 horas. Los juveniles se pesaron cada 10 días y el tamaño de ración se ajustó de acuerdo a los pesos registrados. Treinta minutos después de cada alimentación, la dieta no consumida se removió.

Tabla 6. Diseño experimental

Tratamiento	Individuos por población	
	CPA El Zarco	Granja Tres Piedras
Dieta 75% APS	25	25
Dieta 90% APS	25	25
Control	25	25
Total	75	75
Réplicas	x 3	x 3

Durante la prueba de alimentación, los parámetros de la calidad del agua: oxígeno disuelto, amonio y temperatura fueron monitoreados y mantenidos en óptimas condiciones. El flujo de agua promedio de los tanques fue de 2 L min⁻¹. La prueba de alimentación tuvo una duración de 80 días, a los 50 se retiraron 5 individuos por réplica y se continuó la prueba con el resto. Al finalizar, los organismos se mantuvieron sin alimentación por 24 h y se pesaron para determinar el crecimiento. Posteriormente fueron regresados a sus respectivos tanques para determinar el coeficiente aparente de digestibilidad (CAD) de la proteína, por 10 días más. Al finalizar se evaluó el consumo de oxígeno y la excreción de fósforo y nitrógeno amoniacal, finalizando este proceso se sacrificó a los organismos con eugenol a

una concentración de 400 mg L⁻¹ como se indica en Borski & Hodson (2003) y se les disectó para determinar el contenido químico-proximal, la actividad de la tripsina, hormona de crecimiento (GH) y factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1).

Medición del crecimiento

Los parámetros de crecimiento que se consideraron son:

Peso final (g)

Ganancia en peso [GP = ((peso final – peso inicial) / peso inicial) x 100]

Tasa de crecimiento específico [TCE = ((ln peso final – ln peso inicial) / tiempo de alimentación) x 100]

Coefficiente térmico de crecimiento [CTC = ((peso final^{1/3} – peso inicial^{1/3}) / (tiempo de alimentación x temperatura promedio)) x 100]

Tasa de eficiencia de la dieta [TED=ganancia en peso (g)/total de dieta ingerida en base seca (g)]

Tasa de eficiencia de la proteína [TEP=ganancia en peso (g)/total de proteína ingerida en base seca (g)], y Factor de condición [K= 100 (peso/longitud)].

Determinación de la digestibilidad

El coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína se determinó utilizando óxido de cromo Cr₂O₃, en polvo como marcador inerte en una concentración de 1% en cada dieta. Las dietas con el marcador se ofrecieron a los peces por un periodo de 10 días, durante el cual las heces se colectaron diariamente, se secaron en un horno y 500 mg se digirieron con una mezcla de ácido perclórico y ácido nítrico a 250 °C. El contenido de cromo en las heces se cuantificó con la fórmula reportada por

Furukawa & Tsukahara (1966): $[Cr_2O_3] = ((Y-0.032) / 0.2089) / 4$ Donde, Y= absorbancia a 350 nm. Los CAD para la porción de la proteína se calcularon con la fórmula de Austreng (1978): $CAD (\%) = 100 - ((\%MD / \%MH) \times (\%NH / \%ND) \times 100)$ Donde, MD= marcador en la dieta; MH= marcador en las heces; NH= nutriente en las heces y ND= nutriente en la dieta.

Determinación de la excreción de fósforo y nitrógeno y consumo de oxígeno

Los peces se mantuvieron sin alimento por un periodo de 12 horas previo a la prueba. Se utilizó un sistema de circulación cerrado, compuesto de frascos de 1L conectados en serie por medio de mangueras de plástico. Los frascos se llenaron lentamente con agua y una vez completado el proceso, se cerró el flujo del agua.

Se tomaron muestras para la determinar las concentraciones iniciales de O₂, P y N. Se colocó un pez en cada frasco cerrado herméticamente por un periodo de 30 min, después del cual se determinó la concentración de O₂, P y N. El oxígeno disuelto se determinó utilizando un oxímetro (modelo 85, YSI Inc.) y el consumo de oxígeno se calculó por la resta de la concentración inicial a la final. La excreción de Fósforo como ortofosfatos PO₄³⁻ se determinó mediante el método de molibdovanadato (Clescerl et al. 1995), mientras que el nitrógeno como nitrógeno amoniacal NH₃- por el método de Nessler (Clescerl et al. 1995).

Actividad de la tripsina

El tracto digestivo completo de al menos 5 especímenes se removió para la preparación de extractos crudos de los ciegos pilóricos, se pesaron, lavaron en buffer PBS 1X pH 7.0 y homogenizaron en una solución buffer en un volumen de 5 veces el peso de la muestra y se centrifugaron a máxima velocidad por 2 min. El sobrenadante se recuperó y se utilizó para determinar la actividad enzimática de la

tripsina mediante kit colorimétrico Abcam® en espectrofotómetro a 405 nm por 1 hora.

Concentración de hormonas de crecimiento

El hígado de al menos 5 especímenes se removió para la preparación de extractos crudos y se homogenizó en una solución PBS 1X pH 7.0 en un volumen de 3 veces el peso de la muestra, posterior a su centrifugación el sobrenadante se recuperó; también se obtuvo suero sanguíneo de la totalidad de organismos y ambas muestras de 50 µL se utilizaron para determinar la concentración de Hormona del crecimiento (GH) y Factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) mediante la lectura a 405 nm por la técnica serológica de ELISA, interpolando el valor a partir de la curva patrón de estándares kit CUSABIO®.

Análisis químico proximal

Para determinar la composición proximal de los diferentes tejidos y dietas, se utilizaron las técnicas reportadas por Olvera-Novoa *et al.* (1993), para determinar el contenido de cenizas, humedad y digestibilidad aparente. Para la determinación del contenido de lípidos, se utilizó la técnica descrita por Bligh y Dyer (1959) de cloroformo y metanol y para el contenido de proteína se realizó digestión de Kjeldahl con equipo marca Foss®.

Análisis estadístico

Para cada prueba los datos obtenidos se sometieron a normalidad y homoscedasticidad con la prueba de Shapiro - Wilk. Posteriormente se trataron con un ANOVA de 2 x 2. Las diferencias significativas entre los tratamientos se

evaluaron con una prueba de Fisher LSD y las diferencias se determinaron con un error de 5% ($p < 0.05$) para cada grupo de comparaciones.

Resultados

"La ciencia se construye a partir de aproximaciones que gradualmente se acercan a la verdad."- Isaac Asimov-

Parámetros productivos

Los datos muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) en el coeficiente térmico de crecimiento, con valores más altos para los organismos alimentados con en la dieta de 75% de APS ambas poblaciones. Para los demás parámetros medidos no se encontraron diferencias significativas ver Tabla 7 y Gráficos 1 y 2.

Tabla 7. Parámetros productivos para ambas poblaciones por tratamiento. Los valores son la media \pm desviación estándar. Letras diferentes (b) indican diferencias significativas ($P < 0.05$). En gráficos1 ganancia en peso y 2 supervivencia por réplica.

Dieta	Peso final (g)	Ganancia en peso (%)	Tasa de crecimiento específico	Coefficiente térmico de crecimiento	Tasa de conversión del alimento
Z 75	6.6 \pm 0.5 ^a	1589.2 \pm 179.8 ^a	1.4 \pm 0.2 ^a	0.24023 \pm 0 ^b	3.1 \pm 0.4 ^a
Z 90	5.6 \pm 0.5 ^a	1090.0 \pm 67.30 ^a	1.3 \pm 0.2 ^a	0.20203 \pm 0 ^a	2.2 \pm 0.1 ^a
Z Ctrl	7.2 \pm 0.7 ^a	1665.9 \pm 461.3 ^a	1.5 \pm 0.1 ^a	0.24130 \pm 0 ^a	3.1 \pm 0.2 ^a
T 75	6.9 \pm 0.5 ^a	1798.4 \pm 271.1 ^a	1.4 \pm 0.1 ^a	0.26489 \pm 0 ^b	2.5 \pm 0.3 ^a
T 90	6.4 \pm 0.9 ^a	1151.9 \pm 434.5 ^a	1.3 \pm 0.2 ^a	0.2029 3 \pm 0 ^a	2.3 \pm 0.5 ^a
T Ctrl	7.5 \pm 0.7 ^a	1313.8 \pm 482.5 ^a	1.4 \pm 0.2 ^a	0.22485 \pm 0 ^a	2.2 \pm 0.3 ^a

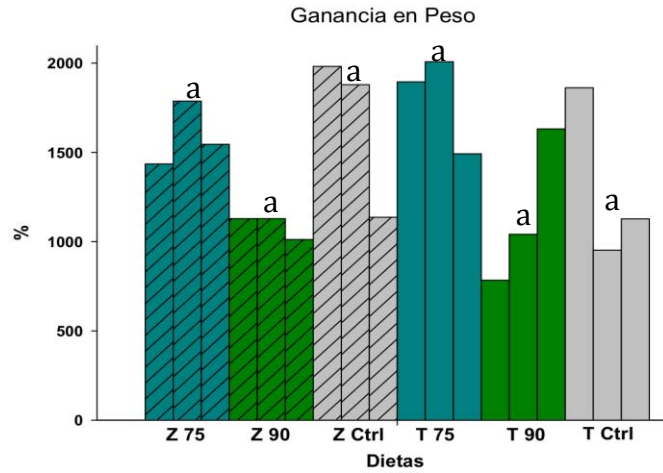


Gráfico 1. Ganancia en peso por réplica por tratamiento. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

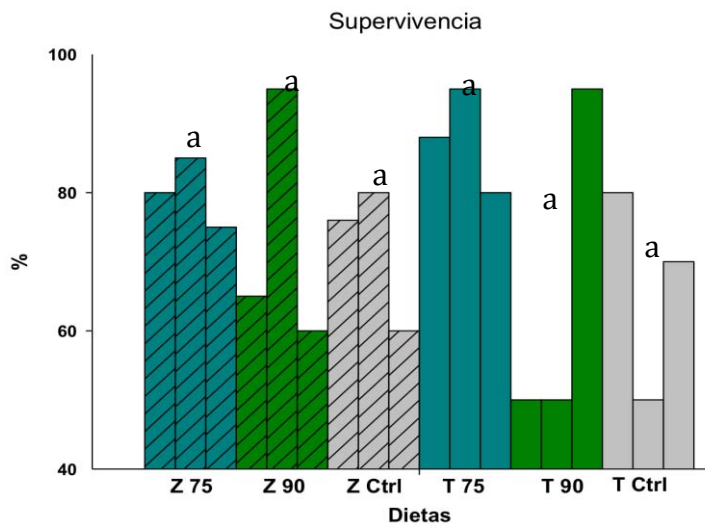
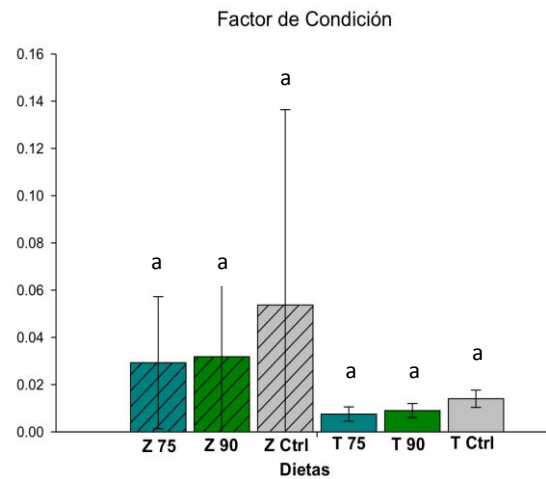
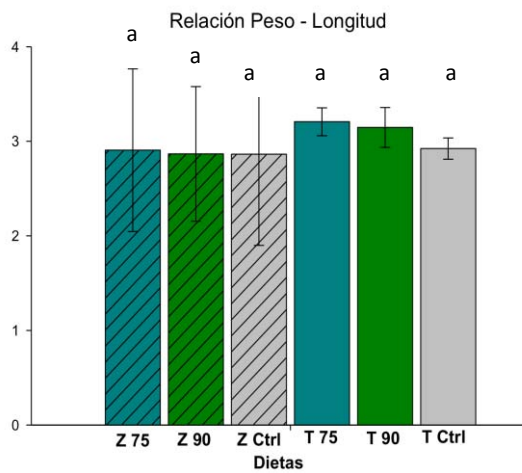


Gráfico 2. Supervivencia por réplica por tratamiento. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Indicadores fisiológicos

Relación Peso-Longitud y Factor de Condición

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones, se puede observar que existe una gran variabilidad entre los individuos del Zarco mientras que los organismos de Tres Piedras los datos se encuentran más agrupados.



Índice hepatosomático

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Sin embargo, en la población del Zarco, parece existir una tendencia a disminuir el índice hepatosomático en los tratamientos con las dietas vegetales. Mientras que en la población de Tres Piedras no se percibe tal influencia.

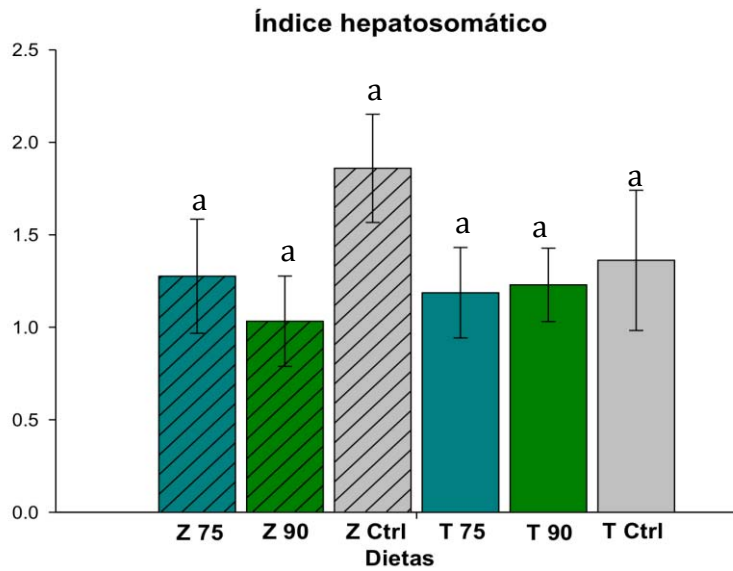


Gráfico 5. Índice hepatosomático. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Digestibilidad aparente de la proteína

Los datos muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) para los organismos alimentados con la dieta de 90% de APS provenientes de la población del Zarco, con un valor más alto que las demás de dietas vegetales.

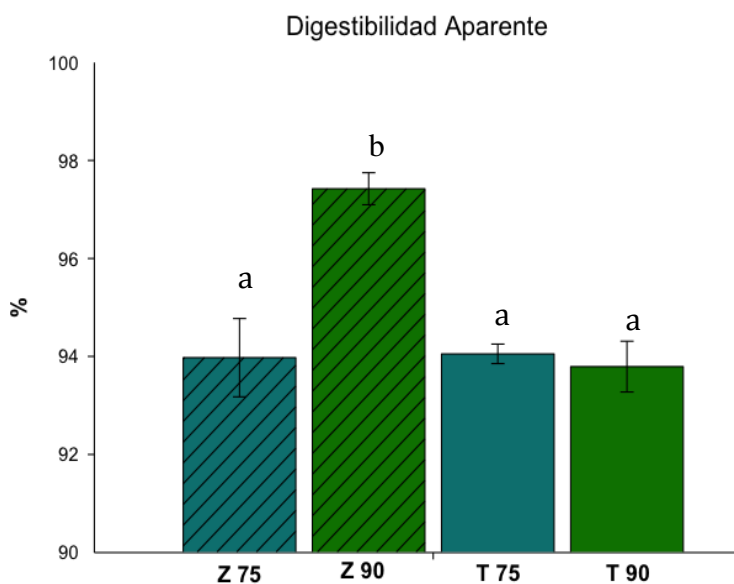


Gráfico 6. Porcentaje de la digestibilidad aparente. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Actividad de la tripsina

Los datos muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) en todos los tratamientos de ambas poblaciones. Los valores más altos se obtuvieron para los organismos del Zarco alimentados con dietas vegetales.

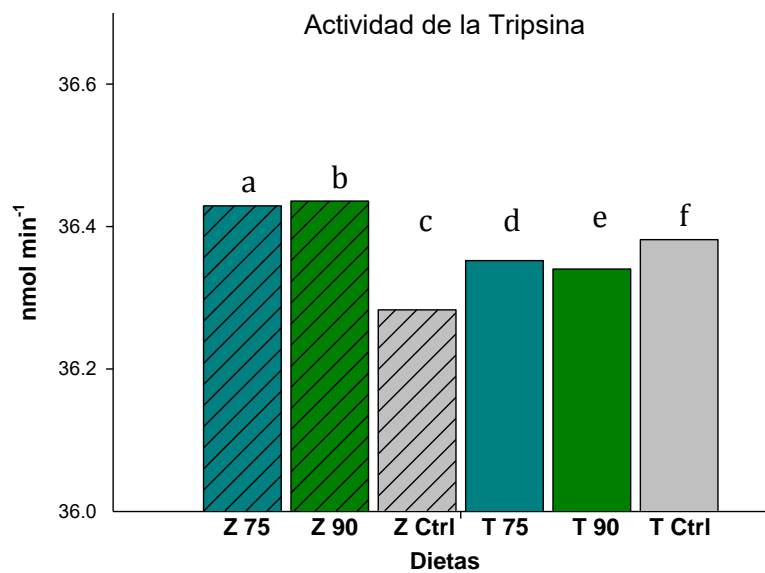


Gráfico 7. Actividad de la tripsina en intestino. Los valores son la media \pm desviación estándar. Existen diferencias significativas entre todos los tratamientos ($P < 0.05$).

Excreción y respiración

Excreción de nitrógeno amoniacal

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Se puede observar que existe una gran variabilidad entre los individuos de ambas poblaciones.

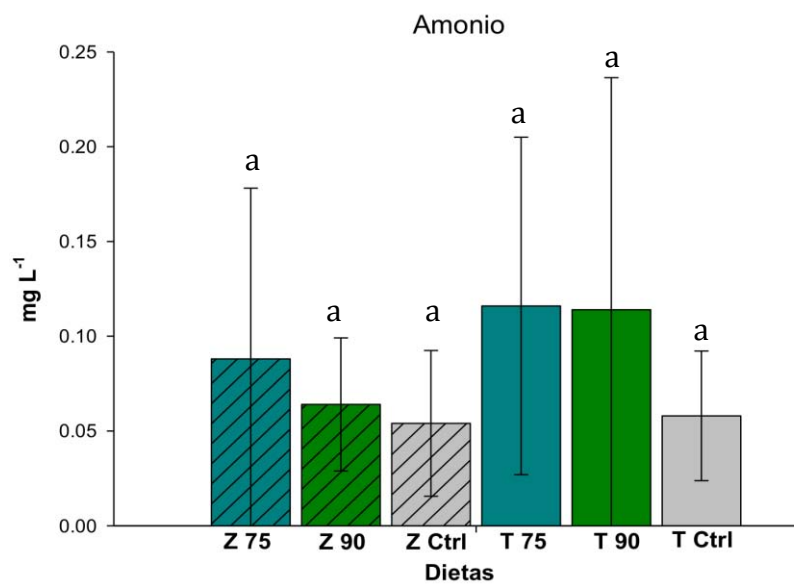


Gráfico 8. Excreción de amonio. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Excreción de fósforo

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Se puede observar que existe una gran variabilidad entre los individuos del Zarco con 75% de APS.

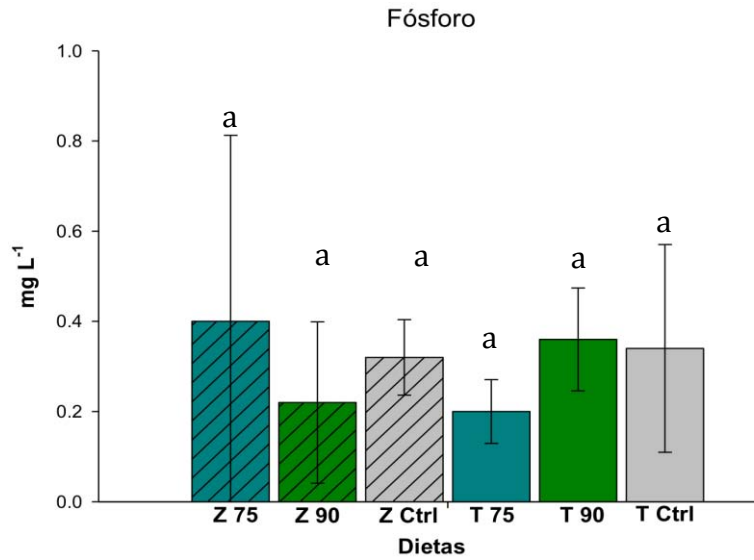


Gráfico 9. Excreción de fósforo. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Consumo de oxígeno

Los datos muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) para el tratamiento de organismos alimentados con dieta de referencia provenientes del Zarco. Se puede observar que no existe una tendencia en el consumo de oxígeno entre los organismos de los demás tratamientos.

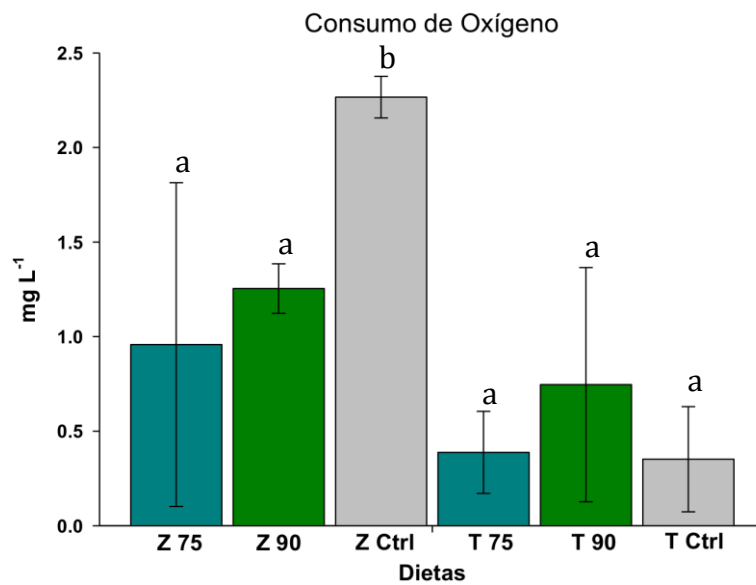


Gráfico 10. Consumo de oxígeno. El grupo control del Zarco es diferente significativamente a los demás tratamientos ($P < 0.05$).

Hormonas de crecimiento

GH en hígado

Los datos muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) para el tratamiento de organismos alimentados con dieta de referencia provenientes de Tres Piedras. Se puede observar que el nivel de GH en hígado de este tratamiento es muy superior al de los demás organismos.

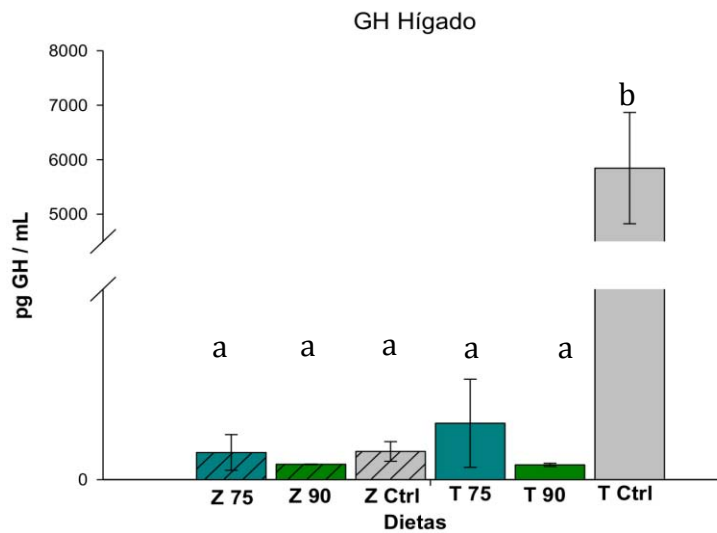


Gráfico 11. Hormona de crecimiento en hígado. Los valores son la media \pm desviación estándar. Se encontró diferencia significativa del tratamiento control de Tres Piedras frente a los demás tratamientos ($P < 0.05$).

GH en suero sanguíneo

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Se puede observar que en el tratamiento de organismos alimentados con dieta de referencia provenientes del Zarco, a pesar de tener los valores más altos, son también aquellos que tienen una gran variabilidad.

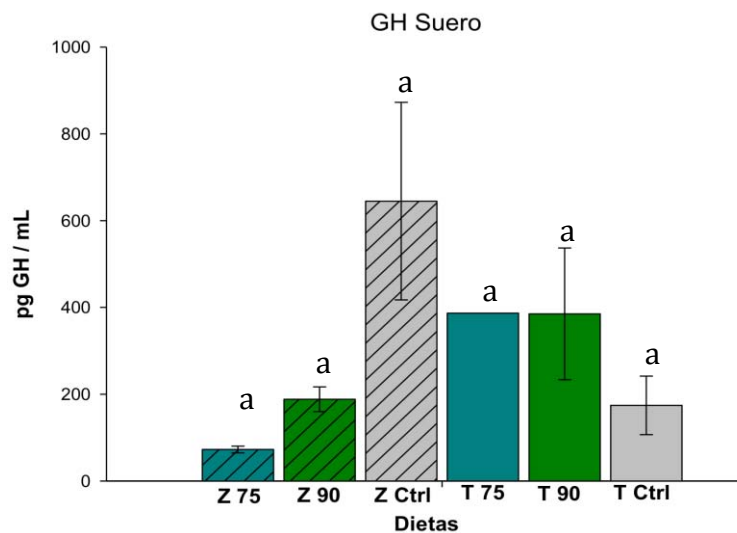


Gráfico 12. Hormona de crecimiento en suero sanguíneo. Los valores son la media \pm desviación estándar. Excepto en T75 el valor es único. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

IGF-1 en hígado

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Se puede observar que en el tratamiento de organismos alimentados con dieta de referencia provenientes de Tres Piedras son los que tienen los valores más altos de IGF-1 en hígado. También se puede observar una gran variabilidad en los organismos de Tres Piedras alimentados con 75% de APS.

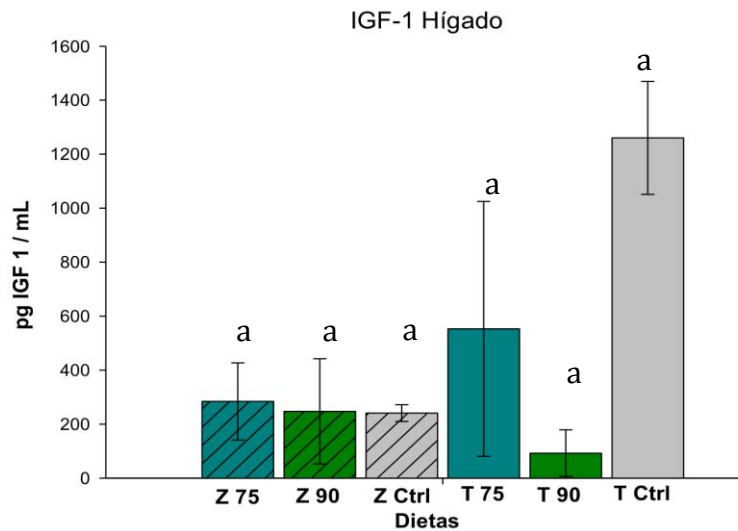


Gráfico 13. IGF-1 en hígado. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Análisis Químico – Proximal

Músculo

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Se puede observar que los organismos de ambas poblaciones alimentados con 75% de APS son los que tienen más porcentaje de proteína en músculo. También se puede observar que el porcentaje de lípidos más alto para los organismos provenientes del Zarco es también el tratamiento de 75% de APS mientras que para los organismos de Tres Piedras es el tratamiento de 90% de APS.

Tabla 8. Análisis químico proximal del músculo de los organismos de ambas poblaciones por tratamiento. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

	Zarco			Tres piedras		
	75 %	90 %	Ctrl	75 %	90 %	Ctrl
Proteína (%)	18.52 \pm 0.7 ^a	16.95 \pm 0.7 ^a	17.74 \pm 2.3 ^a	17.60 \pm 2.2 ^a	17.34 \pm 2.2 ^a	16.36 \pm 1.7 ^a
Lípidos (%)	5.5 \pm 0.4 ^a	4.3 \pm 1.5 ^a	4.6 \pm 2.4 ^a	4.0 \pm 2.0 ^a	7.8 \pm 2.6 ^a	4.6 \pm 1.1 ^a
Ceniza (%)	0.093 \pm 0 ^a	0.083 \pm 0 ^a	0.093 \pm 0 ^a	0.096 \pm 0 ^a	0.085 \pm 0 ^a	0.074 \pm 0 ^a
Humedad (%)	14.2 \pm 0.4 ^a	13.8 \pm 2.6 ^a	13.43 \pm 1.5 ^a	16.3 \pm 1.9 ^a	15.4 \pm 2.0 ^a	14.8 \pm 0.3 ^a

Lípidos en hígado

Los datos no muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos ni poblaciones. Se puede observar que en el tratamiento de organismos de tres Piedras alimentados con dieta de 75% de APS son los que tienen los valores más altos lípidos en hígado, así como también los que presentan la variabilidad más amplia.

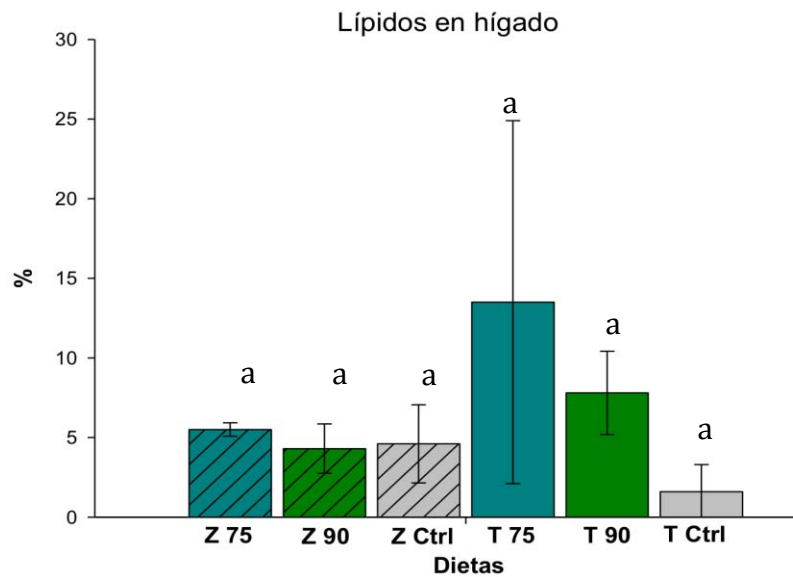


Gráfico 14. Porcentaje de lípidos en hígado. Los valores son la media \pm desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

Discusión

"La ciencia es más que un simple conjunto de conocimientos: Es una manera de pensar." - Carl Sagan-

Se considera que el requerimiento en composición y energía de la dieta varía de acuerdo a la etapa de los organismos, asumiendo que para las etapas tempranas el mayor porcentaje de proteína se destine al crecimiento por deposición en músculo y la energía provenga del catabolismo de los ácidos grasos, con dietas hipoenérgicas los aminoácidos de las proteínas son desaminados y las cadenas hidrocarbonadas incorporadas al ciclo de Krebs para obtención de la energía faltante (NRC, 2011). En este estudio las dietas experimentales presentaron 310,8 – 75% APS y 309,0 – 90% APS kcal/g de energía digestible, situado por debajo del requerimiento estimado del NRC (2011) de 4,200 y 3,704 kcal/g del NRC 1993 (FAO, 2016). Al comparar la ganancia en peso y tasa específica de crecimiento de los tratamientos con el control de dieta comercial no parece verse afectado el crecimiento por las dietas con alta inclusión de APS al no encontrar diferencias significativas con la dieta comercial e incluso siendo superior a las ganancias en peso (337 ± 122 y 358.5 ± 70) y tasas de crecimiento específico (1.1 ± 0.2 y 0.9 ± 0.1) obtenidas por Aguillón-Hernández (2015) en la misma suplementación de aminoácidos y un 40% de APS, aunque es necesario aumentar el tiempo de prueba hasta juvenil por si se encuentran efectos adversos como los que reporta Hernández-Flores (2014) posteriores a 75 días de alimentación con harina de soya y *spirulina*.

Respecto a la suplementación de aminoácidos, no se observaron efectos negativos, pues no se tocó el umbral de toxicidad de la metionina de 1.75 % reportado por Harding et al. (1997). Por su parte, Aguillón-Hernández (2015) menciona no observar ningún efecto negativo en el crecimiento por la inclusión de 1% de metionina en la dieta y sí efectos positivos en las inclusiones de taurina /metionina en 0.5/0.5 % y 0.75/ 0.25 %. Los datos obtenidos en este estudio revelan que no existió un efecto negativo en el crecimiento causado por los aminoácidos.

La dieta parece tener un efecto similar en ambas poblaciones, los organismos alimentados con 75% APS tuvieron las ganancias en peso más altas que los de 90% APS. Al comparar la ganancia en peso y la supervivencia por réplica (gráficos 1 y 2) se puede notar una correspondencia entre ganancias en peso bajas y supervivencias bajas independientemente de la dieta. Esta observación es concordante con otros estudios donde la inclusión de APS en la dieta afecta la supervivencia y el crecimiento, no obstante, no existen diferencias significativas en el peso final u otros parámetros productivos con excepción del coeficiente térmico de crecimiento.

Al respecto, existen actualmente algunos estudios que asocian bajos rendimientos en crecimiento de peces carnívoros con dietas que incluyen o se basan en APS como fuente de proteína, tal es el caso de Blaufuss *et al.* (2012) quienes indican que la supervivencia, ganancia en peso y tasa específica de crecimiento de juveniles de lubina híbrida *Morone chrysops x saxatilis* se vieron afectados por la inclusión de APS en la dieta, no obstante, los autores remarcan que las diferencias a pesar de no ser significativas, observaron la presencia de organismos vigorosos y otros con bajo crecimiento, no atribuible a la densidad de organismos por tanque. En el estudio de Xu *et al.* (2012) donde se utilizaron 8 dietas con niveles crecientes de APS en juveniles de esturión *Acipenser schrenckii*, se reportaron niveles bajos de supervivencias y ganancia en peso a las dietas con alta inclusión de APS, así como una relación en el incremento de proteínas séricas globulina y fosfatasa alcalina, ésta última enzima relacionada en disfunciones hepáticas; de igual forma mencionan reducida la actividad de las enzimas digestivas pepsina, tripsina, lipasa y amilasa con altos niveles de APS en la dieta, aunque dicho efecto no se percibe cuando se suplementan aminoácidos en la dieta.

Los efectos adversos mencionados se relacionan con la presencia de antinutrientes provenientes del APS en la dieta debido a un efecto de concentración en el proceso de obtención del APS, principalmente de saponinas, que se encuentran en la soya naturalmente y que interfieren en la asimilación de los lípidos e inducen enteritis en

trucha arcoíris cuando se encuentran en un porcentaje mayor al 0.24% de la dieta (Penn, 2005 y Blaufuss, et al. 2012).

En este aspecto, Eldridge y Wolf (1969) señalan que el contenido de saponinas en soya desgrasada es aproximado del 0.6%. Mientras que Lin et al. (2006) reportan que el APS puede contener un remanente hasta del 41% de saponinas y 27% de isoflavonas dependiendo el contenido final de estos últimos de la temperatura de lavado y precipitación. Por lo que estos datos sugieren que el aislado de proteína de soya puede no ser la mejor elección frente al concentrado de proteína. Es así que Hardy (2003) menciona que para trucha arcoíris no se han reportado efectos adversos con la sustitución de 50% de harina de pescado por CPS, debido a que el CPS es lavado alcohólicamente con el cual son extraídas las saponinas. Adicionalmente, Francis et al. (2002) mencionan que las saponinas pueden activar receptores de glucocorticoides y unirse a receptores de esteroides, conociéndose en ratas un mecanismo por el que inhiben la enzima 11B-corticosteroide-deshidrogenasa que transforma el cortisol en cortisona. Explicando en gran parte los signos de estrés y la inmunidad comprometida que presentan los organismos alimentados con grandes cantidades de APS.

En cuanto al coeficiente térmico de crecimiento, las dietas con 75% de APS resultaron ser mejores estadísticamente de los demás tratamientos e inclusive los organismos de Tres Piedras muestran un mejor crecimiento que con la dieta de referencia, mientras que en los organismos del Zarco es muy parecido el crecimiento con la dieta 75% APS y la comercial. Mientras que para los demás parámetros de crecimiento, no se observó diferencias significativas, sin embargo, la tasa de conversión alimenticia es menor en la población de Tres Piedras viéndose reflejado en una ganancia en peso superior. Lo cual puede asociarse a una mejor tolerancia del APS de forma generalizada en esta población.

Cabe destacar que en este estudio la población del Zarco presenta grandes desviaciones estándar en los siguientes parámetros: índice hepatosomático, relación peso longitud y factor de condición que son indicadores del estado fisiológico de los organismos. Esta variabilidad de la población puede estar

relacionada a factores genéticos donde existan organismos tolerantes e intolerantes a los antinutrientes presentes al aislado de proteína de soya.

En lo que se refiere a la digestibilidad aparente de la proteína, la harina de pescado es una fuente con buena digestibilidad en salmónidos (Hernández-Flores, 2013) al igual que el CPS, no obstante, este último contiene isoflavonas que podrían afectar el crecimiento (Mambrini et al. 1999). Con base en esto se podría esperar un resultado similar al emplear APS. Aunque no se pudo medir la digestibilidad de los controles por tratarse de alimento comercial, el tratamiento con mejor digestibilidad resultó ser el de Z90, aunque no se observa el mismo patrón para T90, esto es probablemente debido al efecto del linaje o población, resaltando nuevamente la variabilidad de los organismos provenientes del Zarco.

Considerando lo anterior, Kroghdal et al. (1994) señalan que existe una relación entre actividad de la tripsina y la digestibilidad; Grosell y Farrel (2005) mencionan que en salmón *Salmo salar* y lubina rayada *Morone saxatilis* la actividad de la tripsina incrementa debido a factores antinutricionales que afectan la digestibilidad, al hacer esa comparación podemos observar que la actividad de la tripsina de la población de Tres Piedras es homogénea y se encuentra justo en medio de la actividad del tratamiento control y las experimentales del Zarco. Resultando en Z90 una actividad de la tripsina alta y digestibilidad alta, probablemente debido a una modificación en la expresión de otras peptidasas como compensación por altos niveles de antinutrientes en la dieta.

Respecto a la excreción de nitrógeno amoniacal, los organismos alimentados con las dietas experimentales de APS no presentaron diferencias significativas con el control ni entre sí, de acuerdo con Médale *et al.* (1998) el concentrado de proteína de soya puede favorecer un aumento en la excreción y la suplementación de Metionina ayuda a descender el exceso de Nitrógeno amoniacal excretado, por lo que podría esperarse un descenso de este con las dietas experimentales, al compararse los resultados con los obtenidos en estudios previos del laboratorio de producción acuícola se observa que con concentrado de proteína de soya, Meza (2013) obtuvo niveles significativamente más bajos que los que aquí se presentan

con una concentración final de Metionina y Cisteína de 0.6 y al comparar con Aguillón-Hernández que también empleó APS en la dieta se presentan resultados similares a los de este estudio. En este sentido, ambas poblaciones tuvieron un comportamiento similar de excreción amoniacal.

Por su parte, el Fósforo tiene un papel fundamental en el crecimiento longitudinal de los organismos, por lo que su retención acrecenta el hueso y está dirigida en los condrocitos por el IGF-1 (Hill, 2012). En los resultados obtenidos no se encuentran diferencias significativas en la excreción de fósforo entre dietas experimentales y control de ambas poblaciones, comparando los resultados con Aguillón-Hernández (2015), en este estudio la excreción es superior, la diferencia de este resultado radicaría a que en este estudio se empleó harina de pescado para balancear el contenido de aminoácidos en las dietas experimentales, mientras que Aguillón-Hernández empleó polvo de *spirulina* que contiene menos fósforo.

Alteraciones en el consumo de oxígeno pueden indicar estrés o enfermedad, este parámetro está estrechamente relacionado con el crecimiento y se tiene noticia que organismos sometidos a hipoxia prolongada detienen el consumo de alimento. (Grisdale-Helland et al. 2002) en este aspecto, el consumo de oxígeno fue mayor en los organismos provenientes del Zarco que en la población de Tres Piedras, siendo más probable un efecto de la población que una intolerancia a la dieta, porque el grupo control del zarco fue el tratamiento con mayor consumo de oxígeno.

La deposición de proteína y/o lípidos depende del estadio de desarrollo y de las funciones fisiológicas de los órganos (NRC, 2011). Wacyk et al. (2012) reportan una relación entre la acumulación de lípidos en el organismo y alimentar con aislado de proteína de soya. A su vez Snyder et al. (2012) reportan que el incremento de lípidos en hígado es consecuencia de una sobresuplementación de Leucina e Isoleucina, que tienen efectos lipogénicos dado que la Leucina es usada para sintetizar triglicéridos en tejido adiposo (Choo, et al. 1991). Sin embargo en los resultados obtenidos el contenido de lípidos en hígado del tratamiento T75 no puede ser explicado por la sobresuplementación de dichos aminoácidos al estar en la dieta un 2% por debajo del mencionado para ver dichos efectos y al no tener correlación con

el IH, es más probable que este resultado sea debido a la población. Al realizar una comparación entre la cantidad de lípidos de ambas poblaciones, podemos sugerir que los organismos de Tres Piedras acumulan el exceso de lípidos de las dietas experimentales en el hígado. En la literatura es difícil localizar algún dato sobre la concentración óptima o típica de lípidos en los tejidos de trucha arcoíris. No observamos algún patrón para la deposición de lípidos en el músculo de ambas poblaciones. Petterson (2010) sugiere que la cantidad de lípidos en los tejidos es proporcional a los de la dieta.

Por su parte, el contenido de proteína en músculo no se vio afectado por efecto de las dietas respecto al control, las diferencias encontradas, aunque no significativas estadísticamente se deben a un efecto de la población, resultando contrastante el resultado del tratamiento Z90 con un contenido bajo de proteína respecto a su alta digestibilidad. Los resultados de manera general son similares a los de Aguillón-Hernández (2015) para dietas similares en APS como fuente de proteína y suplementación de Taurina-Metionina.

En otro orden de ideas, durante las décadas pasadas ha sido demostrada la presencia y el papel del IGF-1 como promotor del crecimiento en peces, sus niveles junto con los parámetros de crecimiento pueden servir de ayuda a evaluar la calidad de una dieta. No obstante, los datos obtenidos en este estudio y muchos otros muestran resultados ambiguos, la complejidad del estudio del IGF-1 es multifactorial, interviniendo desde las concentraciones de aminoácidos en la dieta, (Gaylord, 2005 y Hevroy, 2007) origen de la proteína (Gómez-Requene 2005) el tamaño de los organismos (Shimizu, 2009), energía de la dieta (Beckman, 2001), temperatura, fotoperiodo (Taylor, 2005) estrés, desnutrición, entre muchos otros (Picha, 2008).

El IGF-1 y la GH en hígado del tratamiento control de Tres Piedras resultaron en una concentración significativamente mayor a los demás tratamientos, sin embargo, estos datos no se reflejan con un crecimiento mayor que en los demás tratamientos, una explicación a este fenómeno podría ser que en los otros tratamientos el IGF-1 puede estar siendo retenido por la IGFBP-1, proteína cuya función es el transporte

y retención del IGF-1 y que es expresada cuando existen altos niveles de cortisol en el plasma (Picha, 2008). La causa de los altos niveles de cortisol sería debido al contenido de saponinas en las dietas experimentales que estuviesen impidiendo la degradación del cortisol.

En este aspecto, Benedito-Palos (2007) relaciona las IGFBP de los peces 1 y 2 con el catabolismo, la 3 con el anabolismo y la 5 aún permanece incierta. Al respecto, Gabillard (2006) reporta que hacer cambios en la dieta modifica los niveles de IGF-1 en el plasma de trucha arcoíris en 4 días y Shimizu et al. (2009) Notaron cambios en el nivel de IGF-1 apenas unas cuantas horas después de la alimentación.

Adicionalmente Montserrat et al. (2007) reportan que un período de ayuno de 4 semanas eleva los niveles de IGF-1 en trucha arcoíris, por el contrario, Wilkinson (2006) indica la elevación en los niveles de IGF-1 en Salmón del atlántico *Salmo salar* posteriores a 10 - 30 minutos de estrés. Debido a estas discordancias, Beckman (2011) sugiere que IGF-1 no es útil como marcador de crecimiento, al menos si no se mide la concentración plasmática en conjunto con su expresión, los niveles de IGFBP's y otras hormonas que obscurecen la cinética del IGF-1.

En este estudio, las mediciones de GH e IGF-1 indican que los organismos del Zarco y Tres Piedras presentaron signos de estrés, no atribuible del todo a la dieta debido a concentraciones similares de GH e IGF-1 del control de Tres Piedras con los de organismos alimentados con las dietas experimentales, no obstante, el tratamiento T75 indica una concentración de IGF-1 que se relaciona positivamente con el crecimiento, al igual que sus parámetros productivos, por lo que en un esfuerzo futuro sería deseable establecer la relación entre concentración de IGF-1 y los parámetros productivos . Finalmente, también es necesario realizar pruebas de alimentación más prolongadas a fin de elucidar si los niveles de GH e IGF-1 obtenidos en este estudio son constantes y que tipo de relación tienen en el crecimiento y como consecuencia de la dieta.

Conclusiones

- Los resultados del presente estudio demuestran que una dieta con una alta inclusión de aislado de proteína de soya y lípidos de origen vegetal no tiene diferencias significativas en la mayoría de los parámetros de crecimiento con una dieta comercial para crías de trucha arcoíris por un período inicial de 80 días.
- En base al coeficiente térmico de crecimiento medido de los diferentes parámetros de ambas poblaciones de trucha arcoíris de este estudio, se establece que la dieta con 75% de aislado de proteína de soya es mejor que la dieta con 90% de APS y es candidata a sustituir una dieta comercial de iniciación para trucha arcoíris.
- En este estudio, la población del Zarco tuvo una gran variación de respuesta a las dietas experimentales en los diferentes parámetros medidos, no obstante, es posible seleccionar organismos tolerantes en base a su rendimiento.
- En el presente estudio la población de Tres Piedras permaneció con una tendencia homogénea en sus variables fisiológicas y con un rendimiento favorable hacia las dietas experimentales.
- Los organismos de ambas poblaciones alimentados con un 90% de aislado de proteína de soya tuvieron una supervivencia menor y más signos de estrés que aquellos alimentados con 75% APS y dieta comercial, como posible consecuencia de un alto contenido de isoflavonas en el aislado de proteína de soya sin embargo, no se presentaron diferencias significativas.
- La digestibilidad aparente de la proteína de las dietas con aislado de soya y lípidos de origen vegetal, fue mayor para los organismos alimentados con la dieta de 90% APS del CPA El Zarco, sin embargo, esto no obtuvo reflejo en un mayor crecimiento.

- La actividad de la tripsina de los organismos provenientes del CPA El Zarco alimentados con las dietas experimentales fue mayor que en los del grupo Tres Piedras, indicando una intolerancia al APS.
- La composición proximal de hígado y músculo de crías de trucha arcoíris se vio influenciada por la dieta en la población del CPA El Zarco, en la población de Tres Piedras se percibió una acumulación de lípidos en hígado, no obstante no se presentaron diferencias significativas.
- La excreción de N-amoniaco y fósforo no presentó diferencias significativas entre dieta comercial y las dietas con aislado de proteína de soya suplementado con aminoácidos azufrados y lípidos de origen vegetal.
- El consumo de oxígeno se vio influenciado por efecto de la población, en los organismos del CPA El Zarco fue mayor que en Tres Piedras y no parece ser afectado por la dieta.
- El nivel de hormonas de crecimiento en crías de trucha arcoíris no tuvo una correlación positiva con el crecimiento, excepto en el tratamiento de 75% APS de la población de Tres Piedras se recomienda realizar muestreos periódicos de GH, IGF-1 e IGF-BP`s serológicos y de expresión genética en diferentes condiciones alimenticias con el fin de poder asociar el papel de las hormonas con variables ambientales y nutricionales.

Referencias

- Aguillón-Hernández, O. E. (2015). Suplementación de metionina y taurina en dietas para trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* formuladas con proteína vegetal y su efecto sobre el crecimiento y otras respuestas metabólicas. Tesis de Maestría en Ciencias de la producción y de la salud animal. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México. 79p.
- Arvizu-Sánchez, E. (2014). Evaluación del crecimiento y respuesta inmune de juveniles de trucha arco iris alimentados con fuentes de proteína de soya bajo condiciones prácticas de cultivo. Tesis de Maestría en Ciencias del mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. México DF. 54p.
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA. 771 pp.
- Austreng, E. (1978). Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segment of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*. 13: 265-272.
- Beckman, B. R. (2011). Perspectives on concordant and discordant relation between insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and growth in fishes. *General and Comparative Endocrinology*. 170: 233-252.
- Benedito-Palos, L. Saera-Vila, A. Calduch-Giner, J.A. Kaushik, S. Pérez-Sánchez, J. (2007). Combined replacement of fish meal and oil in practical diets for fast growing juveniles of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): Networking of systemic and local components of GH/IGF axis. *Aquaculture*. 267: 199-212.
- Benevenga, N. (1962). Toxicities of methionine and other amino acids. *Journal of agricultural and food chemistry*. 22: 2-9.

- Blaufuss, P. Trushenski, J. (2012). Exploring soy-derived alternatives to fish meal: using soy protein concentrate and soy protein isolate in hybrid striped bass feeds. *North American Journal of Aquaculture*. 74: 8-19.
- Bligh, E.G. Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911–917.
- Boccignone, M. Forneris, G. Palmegiano, G.B. (1989). Use of extruded maize in Rainbow Trout feed improves growth rate and quality. *Aquacult. Eng.* 8: 139-145.
- Brosnan J.T. & Brosnan M.E. (2006). The sulphur-containing aminoacids: an overview. *J. Nutr.* (Suppl) 1636-1640.
- Caruso, G., Denaro, M.G., Genovese, L. (2009). Digestive enzymes in some teleost species of interest for mediterranean aquaculture. *O. Fish Sci, J.* 2: 74-86.
- Choo, P. Smith, T.K. Cho, C.Y. Ferguson, H.W. (1991). Dietary excess of leucine influence growth and body composition of rainbow trout. *Journal of Nutrition.* 121: 1932-1939.
- Chung, S., Secombes, C.J., (1988). Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. *Comp. Biochem. Physiol.* 89: 539-544.
- Clescerl, L.S., A.E. Greenberg & A.E. Eaton. (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17th ed. Am. Public Health Assoc. Washington, DC.
- CONAPESCA. (2014). Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2012.SAGARPA
- Cruz, C.A.C., L.H. Hernández, M.A. Fernández, T. Ramírez & O. Angeles. (2011). Effects of diets with soybean meal on the growth, digestibility phosphorus and nitrogen excretion of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Hidrobiol.* 21: 118-125.
- De Filippis, A.P. & Sperling, L. S. (2006). Understanding Omega-3s. *American Heart Journal.*151: 564 -570.

- Denstadli, V., Skrede, A., Krogdahl, Å., Sahlstrøm, S., Storebakken, T. (2006). Feed intake, growth, feed conversion, digestibility, enzyme activities and intestinal structure in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed graded levels of phytic acid. *Aquaculture*. 256: 365-376.
- Dersjant-Li, Y.(2002). The use of soy protein in aquafeeds. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.*
- El-Sayed, A. F. M. (2013). Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? a comprehensive review. *Rev. Aq.* 6: 241 – 255.
- FAO. (2012). The state of world fisheries and aquaculture 2012. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy. 209 pp.
- FAO. (2016). Rainbow Trout. *Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System.* En: <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/rainbow-trout/rainbow-trout-home/en/>
- FAO Departamento de Pesca y Acuicultura. (2014). *Perfiles sobre la pesca y acuicultura por países. Estados Unidos Mexicanos. Visión general del sector acuícola nacional.* En <http://www.fao.org/fishery/countryprofiles/search/es>
- Fernández-Blanes, J.I. (2013). Brújula de compra. Especial de cuaresma. Comparativo de pescados y mariscos. PROFECO en línea. Disponible al 07 de Mayo de 2015.
- Francis, G. Kerem, Z. Makkar, H.P. Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition.* 88: 587-605.
- Furukawa, A & H. Tsukahara. (1966). On the acid digestion method for the determination of chromic acid as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 32: 502-506.

- Gabillard, J.C. Kamangar, B.B. Montserrat, N. (2006). Coordinated regulation of the GH/IGF system genes during refeeding in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of endocrinology*. 191: 15-25.
- Gaylord, T. G. Barrows, F.T. Teague, A.M. Johansen, K.A. Overturf, K.E. Sheperd, B. (2007). Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 269: 517-254.
- Gaylord, T.G. Barrows, F.T. (2009) Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* feeds. *Aquaculture*. 287: 180-184.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krodahi, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquacult. Res.* 38: 551-579.
- Ghioni, C. Tocher, D.R. Bell, M.V. Dick, J.R. Sargent, J.R. (1999). Low C18 to C20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18:4(n-3), to eicosapentaenoic acid, 20:5(n-3), in a cell line from the turbot, *Scophthalmus maximus*. *Biochim. Biophys. Acta*. 1437: 170–181.
- Grisdale-Helland, B. Ruyter, B. Rosenlund, G. Obach, A. Helland, S.J. Sandberg, M.G. Standal, H. Rosjo, C. (2007). Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. *Aquaculture*. 207: 311-329.
- Grosell, M. Farrell, A.P. Brauner, C.J. (2011). The multifunctional gut of fish. *American Press*. 448p.
- Hardy, R.W. (2010). Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquacult. Res.* 41: 770-776.

- Hernandez, F.G. Fernandez, A.M.A., Hernandez, H.L.H., Angeles, L.O. (2012). Effects of total replacement of fishmeal with *Spirulina* powder and soybean meal on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Isr.J.of Aquacult. Bamidgeh.* IJA_64.2012.790.1-8.
- Hernández-Flores, G. Hernandez-Hernandez, L. H. Fernandez-Araiza M.A., Angeles-López, O. Ramírez-Pérez, T. (2009). Effects of *Spirulina* powder as substitute of fish meal in diets of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Book of Abstracts, World Aquaculture Society 2009.
- Hernández-Flores, G. (2014). Efectos de la sustitución total de harina de pescado con harina de soya (Glycine máxima) y polvo de *Spirulina* en Juveniles de especies acuícolas de importancia comercial. Tesis de Maestría en Ciencias del mar y Limnología. Universidad Autónoma de México. México DF, 91p.
- Hevroy, E.M. El-Mowafi, A. Taylor, R.G. Olsvik, P.A. Norberg, B. Espe, M. (2007). Lysine intake affects gene expression of anabolic hormones in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Gen. Com. Endocrinol.* 152: 39-46.
- Hill, R. W. Wyse, G. A. Anderson, M. (2012). Animal Physiology. Chapter 6: Nutrition, Feeding and Digestion. Tercera Edición. Sinauer Associates Inc. Massachusetts, USA. 129 – 155.
- Hoffman, A. F. (1999). The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. *Arch. Intern. Med.* 22: 2647 – 2658.
- Kaushik, S.J; Cravedi, J.P; Lalles, J.P; Sumpter, J; Fauconneau, B; Laroche, M. (1995). Partial or total replacement of fishmeal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic, or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 133. 257 -274.
- Krogdahl, A. Lea, T.B. Olli, J.J. (1994). Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acids digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 107: 215-219.

- Kunitz M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *J. Gen. Physiol.* 320: 291-310.
- Lin, J. Krishnan, P.G. Wang, C. (2006). Retention of isoflavones and saponins during the processing of soy protein isolates. *JAOCS*. 83: 59-63.
- Médale, F; Boujard, T; Vallée, F; Blanc, D; Mambrini, M; Roem, A; Kaushik S, J. (1998). Voluntary feed intake nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. *Aquat. Living Resour.* 11 (4) 239 – 246.
- Meza, L.T., Hernández, H.L.H., Fernández, A.M.A., Ángeles, L.O., García, O.A. (2010). Uso de proteína aislada de soya y concentrado de proteína de soya como sustitutos de harina de pescado en dietas balanceadas de juveniles de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*. Memorias de la I Reunión Nacional de Innovación Acuícola y Pesquera. Campeche, México. 46 pp.
- Molina-Poveda, C. (2015) Nutrient Requirements en: Aquafeed formulation. Academic Press.USA. 75-164.
- Monroig, O. Tocher, D. R. Navarro, J. C. (2013). Biosynthesis of Polyunsaturated Fatty Acids in Marine Invertebrates: Recent Advances in Molecular Mechanisms. *Mar. Drugs*. 10: 3998 – 4018.
- Mourente, G. Tocher, D. R. (1993). Incorporation and metabolism of c-14-labeled polyunsaturated fatty-acids in juvenile gilthead sea bream *Sparus aurata* L. in vivo. *Fish Physiol. Biochem.* 10: 443–453.
- Nates, S.F. Ed. (2015) Aquafeed formulation. Academic Press.USA. 279 pp.
- National Research Council. (2011). Nutrient Requirements of Fish and Shrimps. National Research Council, National Academic Press, Washington DC. 376 pp.
- NOAA. (2015). What is aquaculture? NOAA Office of Aquaculture. En: http://www.nmfs.noaa.gov/aquaculture/what_is_aquaculture.html

- Olvera – Novoa, M.A. Martínez- Palacios, C.A. Real de León, E. (1993). Manual de Técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Proyecto Aquila II. FAO – Italia.
- Olsen, R.E., Dragnes, B.T., Myklebust, R. & E. Ringø. (2003). Effect of soybean oil and soybean lecithin on intestinal lipid composition and lipid droplet accumulation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *Fish Physiol. Biochem.* 29: 181-192.
- Opstvedt, J. Aksnes, A. Hope, B. Pike, I.H. (2003). Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins. *Aquaculture.* 221: 365-369.
- Panserat, S., G.A. Hortopan, E. Plagnes-Juan, C. Kolditz, M. Lansard, S. Skiba-Cassy, D. Esquerré, I. Guerden, F. Médale, S. Kaushik & G. Corraze. (2009). Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Aquaculture.* 294:123-131.
- Penn, M.H. (2005). The effects of dietary soybean saponins on growth and performance, intestinal histology and immune response of first feeding rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Tesis doctoral en recursos naturales. Ohio State University. Ohio.121p.
- Petterson, A. (2010). Effects of replacing fish oil with vegetable oils in feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Tesis doctoral en ciencias de la agricultura. Facultad de Recursos Naturales y Ciencias de la Agricultura. Universidad Sueca de Ciencias de la Agricultura. Uppsala. 78p.
- Picha, M.E. Turano, M.J. Beckman, B.R. Borski, R.J. (2008). Endocrine biomarkers of growth and applications to aquaculture: a minireview of growth hormone, insulin like growth factor IGF-I, and IGF-Binding proteins as potential growth indicators in fish. *North American Journal of Aquaculture.* 70: 196-211.

PROFECO. (2014). La canasta. Publicación quincenal gratuita de la PROFECO.
No.6

Reinecke, M. Bjornsson, B.T. Dickhoff, W.W. McCormick, S.D. Navarro, I. Power, D.M. Gutiérrez, J. (2005). Growth hormone and insuline-like growth factors in fish: Where we are and where to go. *General and Comparative Endocrinology*. 142: 20-24.

Salze, G. P. y Davis, D. A. (2014).Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture*. En publicación.

Shimizu, M. Cooper, K.A. Dickhoff, W.W. Beckman, B.R. (2009). Postprandial changes in plasma growth hormone, insulin, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding proteins in coho salmon fasted for varying periods. *Am. J. Physiol*. 297: 352-361.

Silva, A. (2012). Brújula de compra. Especial de precios de pescados y mariscos. PROFECO en línea. Disponible al 07 de Mayo de 2015.

Secombes, C.J., (1990). Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., van Muiswinkel, W.B., (Eds.), Techniques in Fish Immunology. SOS Publications, NJ 07704-3303, USA, pp. 139-154.

Singh, P; Kumar,R; Sabapathy, S.N. Bawa, A.S. (2008). Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 7:14–28.

Snyder, S.G. Gaylord, G.T. Barrows, F.T. Overtuf, K. Cain, K. Hill, R. Hardy, R.W. (2012). Effects of carnosine supplementation to an all plant protein diet for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 72-81.

Takagi, S. Murata, H. Goto, T. Ichiki, T. Endo, M. Hatate, H. Yoshida, T. Sakai, T. Yamashita, H. 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. *Fish. Sci.* 72: 1191-1199.

Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.Y., Jeon, M.J., Bai, S.C., Lee, W.J., Yuge, K., Koshio, S. (2006). Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fish. Sci.* 72: 310-321.

Taylor, J.F. Migaud, H. Porter, M.J.R. Bromage, N.R. (2005). Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juveniles rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology.* 142: 169-185.

Torstensen, B.E., M. Espe, M. Sanden, I. Stubhaug, R. Waagbø, G.-I. Hemre, R. Fontanillas, U. Nordgarden, E.M. Hevrøy, P. Olsvik & M.H.G. Berntssen. (2008). Novel production of atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. *Aquaculture.* 285: 193-200.

USDA. (2016). Full report (All nutrients): 16108 Soybeans, mature seeds, raw. En: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4845?fgcd=&manu=&facet=&format=Full&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=16108>

Wacyk, J. Powell, M. Rodnick, K. Overtuf, K. Hill, R.A. Hardy, R. (2012). Dietary protein source significantly alters growth performance, plasma variables and hepatic gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amino acid balanced diets. *Aquaculture.* 356-357: 223-234.

Wijekoon, M. P. A. Parrish, C. C. Mansour, A. (2015). Reprint of “Effect of dietary substitution of fish oil with flaxseed or sunflower oil on muscle fatty acid composition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at varying temperatures”. *Aquaculture.* 433: 74 – 81.

Worm, B. Barbier, E. B. Beaumont, N. Duffy, J. E. Folke, C. Halpern, B. S. Jackson, J. B. C. Lotze, H. K. Micheli, F. Palumbi, S. R. Sala, E. Selkoe, K. A. Stachowicz,

J. J. Watson, R. (2006). Impacts of Biodiversity Loss on Ocean Ecosystem Services. *Science*. 314: 787 – 790.

Xu, Q.Y. Wang, C.A. Zhao, Z.G. Luo, L. (2012). Effects of replacement of fish meal soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25: 1588-1594.

Yokoyama, S., Koshio, S., Takakura, N., Oxida, K., Ishikawa, M., Gallardo-Cigarroa, F.J., Catacutan, M.R., Teshima, S.-I. (2006). Effect of dietary bovine lactoferrin on growth response, tolerance to air exposure and low salinity stress conditions in orange spotted grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*. 255: 507-513.

Anexos

Anexo 1. Determinación de proteína por Kjeldahl

Esta técnica consta de 3 pasos: Digestión, Destilación y Titulación para conocer el estimado de Nitrógeno por muestra, su desarrollo requiere de al menos 2 días previos para la preparación suficiente de reactivos, conocimiento del manejo del equipo y la estandarización del procedimiento. El proceso completo de la técnica dura alrededor de 5 horas para 8 muestras.

****En todo el proceso y en la preparación de soluciones se emplea agua destilada, asegurarse de la suficiente cantidad para ello**** Usar mascarilla, guantes y lentes de seguridad.

Preparar:

A. Solución neutralizadora de ácidos: 2L NaOH 15% que va en el extractor (scrubber).

B. Solución alkali: 5L NaOH 40% que va en el bidón conectado al destilador.

C. Solución indicadora: (0.22g Rojo de Metilo / 100mL Etanol) + (0.11g Verde de Bromocresol / 50mL Etanol). De esta solución se tomarán 17mL para la siguiente solución.

D. Solución de ácido bórico: (40g H₃BO₃ / 700mL Agua) + 200mL Etanol + 17mL de Sol. C. Aforar a 1L.

E. Solución 1L de Ácido Sulfúrico 0.1N (0.05M)

F. Ácido sulfúrico concentrado (96%) 15mL/muestra

G. Verificar que existan suficientes Kjeltabs (2/muestra)

H. Sulfato de amonio seco en horno y almacenado en desecador (0.15g)

Digestión

*Siempre correr 1 tubos control sin muestra: con ácido, sin Kjeltabs

- Agregar la sol. Neutralizadora de ácidos y agua a los depósitos del extractor hasta el nivel indicado. Verificar que el extractor esté conectado.
- Colocar 1g de muestra seca homogenizada en cada tubo
- Añadir Kjeltabs o Mezcla Reactiva
- Agregar 15mL de H₂SO₄ concentrado

- Subir la temperatura del digestor a 420°C colocar los tubos alrededor de 200°C, iniciar el programa y digerir por 1 hora
- Encender y modular cuando el gas de H₂SO₄ comience a evaporar.
- Terminada la digestión esperar prudentemente a que la temperatura de los tubos baje antes de sacar el rack. Este siempre debe colocarse sobre un colchón de franela seca para evitar que los tubos se estrellen por choque térmico.
- Al finalizar, el color del ácido debe ser verde-azul y no hay precipitados.
- Agregar 70mL de Agua a cada tubo.

Destilación

* Realizar control con Sulfato de Amonio seco (0.15g) como muestra (ver #15)

10. Verificar suficiente volumen de solución Alkali y que su bidón esté correctamente conectado al destilador.
11. Colocar un tubo limpio con agua destilada a la mitad. En el otro soporte colocar un matraz limpio de 250mL.
12. Encender el destilador e iniciar purga presionando el botón de calentado. La purga debe realizarse al inicio de cada corrida y al finalizar.
13. Enjuague entre cada muestra para evitar contaminación presionando el botón de calentado.
14. Colocar 25mL de Solución de ácido bórico en los 8 matraces de 25mL, rotulados correspondientemente a cada tubo.
15. Colocar control de ácido y matraz. Programar el Destilador: Presionar botón de arranque y sin soltar encender; sin soltar programar mL de (50mL) NaOH y tiempo (5min); una vez programado apretar el botón de marcha
16. Sacar los tubos con guantes de carnaza. El matraz está listo para titular.
17. Blanco de Sulfato de amonio: agregar 75mL de agua y 50mL de NaOH 40% y destilar.

Titulación

18. Colocar el matraz en agitador magnético. La titulación se realiza con ácido sulfúrico 0.1N de color rojo a café. De agregar más ácido, la solución virará a un tono rosa mexicano brillante. El color buscado ocurre antes hasta un tono café-amarillento.

Cálculos

**Siempre y cuando se respete la titulación con H₂SO₄ a 0.1N

%Nitrógeno = (mL muestra – mL blanco) * 140.07 / mg muestra

% de recuperación = (%Nitrógeno / %Nitrógeno del control) * 100

Si la puerza del (NH₄)₂SO₄ es 99.5% entonces % de Nitrógeno = 21.09

La pureza del (NH₄)₂SO₄ usado es 99.72% entonces % de Nitrógeno = 21.13

Muestra: %Nitrógeno = (mL muestra – mL blanco) * 140.07 / mg muestra

%Proteína = %Nitrógeno * 6.25

Anexo 2. Determinación de cromo en heces para digestibilidad

Esta técnica al igual que la determinación de proteínas es una digestión, sin embargo, esta reacción es mucho más violenta y peligrosa que Kjeldahl por lo que es necesario usar guantes y máscara, así como usar el extractor.

1. Secar las heces con cromo por tratamiento.
2. Pesar 50 mg de heces secas y colocarlas cuidadosamente en el fondo de los tubos para digestión.
3. Agregar 5 mL de ácido nítrico concentrado y permitir reaccionar por un breve periodo.
4. Calentar los tubos con las muestras y ácido en el digestor; permitir la digestión hasta eliminarse los vapores ocreos y el líquido adquiera un color verde.
5. Esperar a que la solución enfríe.
6. Agregar 3 mL de ácido perclórico a la muestra y volver a calentar hasta que la solución cambie de color verde a amarillo-naranja o rojo. Si al enfriar la solución, ésta vuelve a virar hacia un tono verdoso, es necesario volver a calentar para continuar con la oxidación.
7. Enfriar la solución y agregar 50 mL de agua destilada.
8. Aforar hasta 100 mL con agua destilada.
9. Realizar lectura de densidad óptica a 350 nm el blanco es agua destilada.
10. Realizar los cálculos indicados en la fórmula de Furukawa y Tsukahara.

Anexo 3. Determinación de lípidos por técnica de Bligh y Dyer

1. Lavar y secar en horno frascos viales, tubos de ensaye, matraces Kitasato y embudos de separación usar guantes para evitar contaminarlos.
2. Rotular y pesar cada frasco vial.
3. Pesar 100mg de tejido en base húmeda y colocarlo en tubo de ensaye.
4. Agregar 3mL de solución 1:1 de Metanol-Cloroformo.
5. Homogenizar muestra en hielo.
6. Filtrar la muestra mediante bomba de vacío
7. Vaciar el contenido del kitasato directamente en el embudo de separación.
8. Agregar agua por goteo hasta formar 2 fases traslúcidas. En caso de formar fases blanquecinas, la cantidad necesaria de agua fue rebasada y es necesario agregar más solución de cloroformo-metanol hasta formar las fases.
9. Obtener la fase inferior en frasco vial, la fase inferior es la que contiene los lípidos.
10. Secar los lípidos obtenidos mediante aireación al interior de cada vial.
11. Pesar el vial con el aceite resultante.
12. La diferencia de peso multiplicada por 100 dará el porcentaje de lípidos en la muestra. El aceite obtenido se puede almacenar para posteriores análisis.

Anexo 4. Perfiles de aminoácidos

Evonik Degussa Mexico (1643), Mexico, D.F., Mexico

Descripción: Aislado de proteína de soya

Código del Lab.: DE15-0001092-001

Fecha de entrega: 02 June 2015

Fecha de reporte: 29 June 2015

Proteína cruda (%)*:

Proteína cruda (% tal cual): 85.50

Materia seca (%): 92.57

Resultado del análisis de aminoácidos / Contenido total después de la hidrólisis de proteína

Aminoácido	Contenido (%)*	AA (%) en CP	Contenido (% tal cual)
Metionina		1.249	1.068
Cistina		1.213	1.037
Metionina + Cistina		2.462	2.105
Lisina		6.051	5.174
Treonina		3.620	3.095
Arginina		7.525	6.434
Isoleucina		4.678	4.000
Leucina		7.794	6.664
Valina		4.716	4.032
Histidina		2.523	2.157
Fenilalanina		5.219	4.462
Glicina		4.104	3.509
Serina		5.056	4.323
Prolina		5.032	4.302
Alanina		4.029	3.445
Acido Aspártico		11.496	9.829
Acido Glutámico		18.716	16.002
Total (sin NH 3)		94.349	80.668
Amoníaco		2.075	1.774
Total		96.423	82.442

*Valores estandarizados para un contenido de materia seca de 88%

AA = aminoácido, CP = Proteína cruda

Evonik Degussa Mexico (1643), Mexico, D.F., Mexico

Descripción: Dieta trucha 75% Aislado de proteína

Código del Lab.: DE15-0000895-001

Fecha de entrega: 06 May 2015

Fecha de reporte: 27 May 2015

Proteína cruda (%)*: 43.99

Proteína cruda (% tal cual): 46.40

Materia seca (%): 92.82

Resultado del análisis de aminoácidos / Contenido total después de la hidrólisis de proteína

Aminoácido	Contenido (%)*	AA (%) en CP	Contenido (% tal cual)
Metionina	0.967	2.198	1.020
Cistina	0.550	1.250	0.580
Metionina + Cistina	1.517	3.448	1.600
Lisina	2.388	5.429	2.519
Treonina	1.619	3.681	1.708
Triptofano	0.540	1.228	0.570
Arginina	2.761	6.276	2.912
Isoleucina	1.999	4.545	2.109
Leucina	3.267	7.427	3.446
Valina	2.023	4.599	2.134
Histidina	1.066	2.422	1.124
Fenilalanina	2.109	4.795	2.225
Glicina	1.877	4.267	1.980
Serina	2.036	4.629	2.148
Prolina	2.572	5.847	2.713
Alanina	1.865	4.239	1.967
Acido Aspártico	4.262	9.688	4.495
Acido Glutámico	8.547	19.429	9.015
Taurine	0.639		0.674
Total (sin NH 3)	39.909	90.722	42.095
Amoníaco	0.978	2.224	1.032
Total	40.887	92.946	43.127

Evonik Degussa Mexico (1643), Mexico, D.F., Mexico

Descripción: Dieta trucha 90% aislado de proteína

Código del Lab.: DE15-0000895-002

Fecha de entrega: 06 May 2015

Fecha de reporte: 27 May 2015

Proteína cruda (%)*: 45.17

Proteína cruda (% tal cual): 47.96

Materia seca (%): 93.43

Resultado del análisis de aminoácidos / Contenido total después de la hidrólisis de proteína

Aminoácido	Contenido (%)*	AA (%) en CP	Contenido (% tal cual)
Metionina	0.892	1.975	0.947
Cistina	0.568	1.257	0.603
Metionina + Cistina	1.460	3.232	1.550
Lisina	2.335	5.169	2.479
Treonina	1.592	3.524	1.690
Triptofano	0.553	1.224	0.587
Arginina	2.913	6.449	3.093
Isoleucina	2.072	4.587	2.200
Leucina	3.338	7.389	3.544
Valina	2.050	4.537	2.176
Histidina	1.050	2.325	1.115
Fenilalanina	2.218	4.910	2.355
Glicina	1.808	4.003	1.920
Serina	2.128	4.710	2.259
Prolina	2.666	5.901	2.830
Alanina	1.763	3.903	1.872
Acido Aspártico	4.481	9.921	4.758
Acido Glutámico	8.815	19.514	9.359
Taurine	0.632		0.671
Total (sin NH 3)	40.689	90.075	43.200
Amoniaco	1.022	2.262	1.085
Total	41.711	92.337	44.285

Evonik Degussa Mexico (1643), Mexico, D.F., Mexico

Descripción: harina de pescado

Código del Lab.: NW15-0122404-001

Fecha de entrega: 07 April 2015

Fecha de reporte: 07 April 2015

Proteína cruda (%)*: 68.83

Proteína cruda (% tal cual): 72.19

Materia seca (%): 95.45

Resultado del análisis de aminoácidos

Parámetro	Contenido (%)*	AA (%) en CP	AA (%) TAL CUAL
Metionina	1.959	2.847	2.055
Cistina	0.584	0.849	0.613
Metionina + Cistina **	2.544	3.696	2.668
Lisina	5.420	7.875	5.685
Treonina	2.900	4.213	3.042
Triptofano	0.799	1.160	0.838
Arginina	3.864	5.614	4.053
Isoleucina	2.899	4.212	3.041
Leucina	4.975	7.229	5.218
Valina	3.416	4.964	3.583
Histidina	2.530	3.677	2.654
Fenilalanina	2.720	3.951	2.852

* Valores estandarizados para un contenido de materia seca de 91.00%

AA = aminoácido, CP = Proteína cruda

** Met + Cis estimada con una ecuación de calibración separada

Más información sobre el análisis:

ecuación de calibración NIRS fishC6

Evonik Degussa Mexico (1643), Mexico, D.F., Mexico

Descripción: Dieta MC

Código del Lab.: DE15-0001092-002

Fecha de entrega: 02 June 2015

Fecha de reporte: 29 June 2015

Proteína cruda (%)*:

Proteína cruda (% tal cual): 48.00

Materia seca (%): 93.19

Resultado del análisis de aminoácidos / Contenido total después de la hidrólisis de proteína

Aminoácido	Contenido (%)*	AA (%) en CP	Contenido (% tal cual)
Metionina		2.106	1.011
Cistina		1.173	0.563
Metionina + Cistina		3.279	1.574
Lisina		6.988	3.354
Treonina		4.140	1.987
Triptofano		1.210	0.581
Arginina		5.721	2.746
Isoleucina		3.417	1.640
Leucina		8.398	4.031
Valina		5.663	2.718
Histidina		3.142	1.508
Fenilalanina		4.740	2.275
Glicina		6.233	2.992
Serina		4.610	2.213
Prolina		4.948	2.375
Alanina		6.225	2.988
Acido Aspártico		9.119	4.377
Acido Glutámico		12.935	6.209
Total (sin NH ₃)		90.767	43.568
Amoníaco		1.638	0.786
Total		92.404	44.354

* Valores estandarizados para un contenido de materia seca de 88% AA = aminoácido, CP = Proteína cruda

Agradecimientos

A mis padres, gracias por el apoyo, la educación, la confianza y el cariño.

A Sandra Janet por compartir conmigo tu tiempo, tus abrazos y tu amor.

Al Dr. Luis Héctor Hernández Hernández por su confianza, paciencia y tiempo para hacer posible este proyecto.

A los doctores Crisantema Hernández, Gabriela Gaxiola, Alfonso Álvarez y Cristina Chavez por sus sugerencias y observaciones para que este proyecto finalizara en el presente documento.

A los profesores Mario Alfredo Fernández, Omar Ángeles y Dan quienes con sus experiencias, críticas y comentarios oportunos enriquecieron este proyecto.

A los compañeros del laboratorio: Aguillón (por compartir tu experiencia y conocimiento), Jessi y Lore (por hacer el trabajo ameno, enriquecedor y divertido) Lupe (por compartir tu experiencia).

A la FES Iztacala por la formación que me ha brindado.