



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
BIOLOGÍA MARINA

**Respuestas fisiológicas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*  
Walbaum, 1792) alimentadas con proteínas vegetales ante estrés térmico**

**TESIS**

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

PRESENTA:

**BIÓL. JAVIER ALONSO CARRILLO LONGORIA**

**TUTOR**

**DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**  
LABORATORIO DE PRODUCCIÓN ACUÍCULA, FES IZTACALA, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**

**DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ**  
LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE PECES Y CAMARONES,  
CIAD

**DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ**  
LABORATORIO DE ACUACULTURA TROPICAL, UJAT

**DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS**  
MANEJO DE ZONAS COSTERAS UMDI SISAL

**DRA. MARÍA LETICIA ARENA ORTÍZ**  
LABORATORIO DE ESTUDIOS ECOGENÓMICOS, UMDI SISAL

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX., MARZO DE 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



**Respuestas fisiológicas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) alimentadas con proteínas vegetales ante estrés térmico**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:  
**MAESTRO(A) EN CIENCIAS**

PRESENTA:  
**BIÓL. JAVIER ALONSO CARRILLO LONGORIA**

**TUTOR**  
DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ  
LABORATORIO DE PRODUCCIÓN ACUÍCULA, FES IZTACALA, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**  
**DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ**  
LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE PECES Y CAMARONES,  
CIAD  
**DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ**  
LABORATORIO DE ACUACULTURA TROPICAL, UJAT  
**DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS**  
MANEJO DE ZONAS COSTERAS UMDI SISAL  
**DRA. MARÍA LETICIA ARENA ORTÍZ**  
LABORATORIO DE ESTUDIOS ECOGENÓMICOS, UMDI SISAL

**MÉXICO, CD. MX., MARZO 2021**

**Este estudio fue realizado gracias al apoyo del programa PAPIIT  
IN214719 de la Universidad Nacional Autónoma de México**

*А Оахаса.*

*“... Corría por las calles de Dublín y corría y corría porque sabía que **la vida está en otra parte**. Y también Rimbaud corría constantemente, de Stuttgart a Milán, a Marsella y después a Aden y a Harare y otra vez de vuelta a Marsella, pero para entonces ya tenía una sola pierna y con una sola pierna no se puede correr.”*

Milán Kundera

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

A la UNAM, mi Alma Mater y haberme cobijado desde mi adolescencia cuando ingresé al Colegio de Ciencias y Humanidades hasta este posgrado de Ciencias del Mar y Limnología. Pocas palabras podrían expresar lo agradecido que estoy hacia la Institución.

Al posgrado de Ciencias del Mar y Limnología por darme la oportunidad de cursar la maestría en el Instituto y poder contribuir al desarrollo académico y profesional del país.

A CONACYT por el apoyo económico, sin el cuál no se podría haber concluido este posgrado. Así como del proyecto PAPIIT IN214719 por aportar los medios económicos para la realización de este trabajo.

Al Doctor Luis Héctor Hernández Hernández por la paciencia y confianza depositada en mi persona durante este proceso formativo y de profesionalización de la ciencia. Sus conocimientos y apoyo incondicional han impactado de manera satisfactoria mi desarrollo como biólogo.

A mis asesores y miembros del jurado, la Dra. Crisantema Hernández González y al Dr. Carlos Alfonso Álvarez González por apoyarme en la realización de este proyecto desde su gestación, así como las acertadas observaciones que realizaron sobre este trabajo.

A los miembros de mi jurado: La Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés y la Dra. María Leticia Arena Ortíz por su valioso interés demostrado en el desarrollo y culminación de este proyecto.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A mis padres Mercedes Longoria Aguilar y José Alfredo Carrillo Chávez por su apoyo incondicional, por su amor y por motivarme cada día a ser una mejor persona.

A mis hermanos Eder y Anwar quienes son mis héroes y mis modelos para seguir.

A mis primas Cinthya y Fanny por apoyarme en mis sueños e impulsarme a tener una actitud más positiva en la vida.

A Ana mi compañera de vida, por la construcción de un futuro juntos, por levantarme en los momentos más difíciles.

A los amigos de la pandemia Cesar, Kevin, Andrés, Fernando, Ángel, Giovan y Luis por encontrar momentos para jugar y reír en la situación tan complicada que nos tocó vivir.

A los maestros Humberto Macías Cuellar y Mayra Mónica Hernández Moreno por abrirme las puertas de su laboratorio, su equipo de trabajo y su hogar, por las enseñanzas y por mostrarme que existen otras realidades, otras verdades, otros caminos.

Al maestro Mario Alfredo Fernández Araiza y al Biólogo Omar Ángeles López por sus enseñanzas y confianza depositadas en mí a lo largo de todo este proceso formativo.

A mis compañeros de laboratorio René, Susana y Dan por la construcción de un sólido equipo de trabajo.

A Alexandra Elbakyan “Robin Hood” por sacrificar su libertad y seguridad en incansable labor hacia la democratización de la ciencia.

Finalmente, a todas las amistades que he forjado a lo largo de mi vida a Dennis\_e, Ferrer, Alejandro, Benjamín, Jaime, Quevedo, Aura, Sahori, Javo, Óscar, Arochi, Xavier, Samantha, Luis Fernando, Alejandra Pichardo, Long, Miguel y muchos más.



Esta Página fue intencionalmente dejada en blanco.

## Resumen

La acuicultura es el sector de producción primaria con mayor crecimiento en los últimos 40 años, este desarrollo conlleva a problemáticas en el suministro de insumos para la elaboración de alimentos comerciales, debido a que en su formulación se continúa empleando harina y harina de pescado como principales fuentes energéticas, ya que su disponibilidad y precio dependen de la abundancia de las especies que se emplean para su fabricación. Es por esto, que en las últimas décadas se han invertido grandes esfuerzos para encontrar un sustituto, siendo las harinas y aceites vegetales, las alternativas más prometedoras. Por otra parte, se ha observado un incremento paulatino en la temperatura global, producto del cambio climático, lo anterior, afecta principalmente la producción de especies de agua fría como los salmónidos, puesto que, al ser organismos ectotérmicos obligados, los cambios en la temperatura del agua alteran gravemente distintas funciones fisiológicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento, supervivencia de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas con alimentos con alto contenido de proteínas vegetales ante un estrés térmico crónico.

Ciento ochenta juveniles de trucha arcoíris fueron obtenidos del Centro de producción Acuícola “El Zarco” mismos que fueron utilizados en dos pruebas de alimentación en el Laboratorio de Producción Acuícola de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, y se asignaron aleatoriamente en tanques de experimentación con un sistema de recirculación cerrada con 15 organismos por unidad experimental y cada tratamiento fue realizado por triplicado. Se formuló un alimento experimental que contenía 40% de proteína de origen vegetal (gluten de maíz, concentrado de proteína de soya y concentrado de proteína de arroz) el cual fue contrastado con un alimento comercial como grupo control (Malta-Cleyton, Biofingerling) a dos temperaturas 17°C y 20°C. Los organismos fueron alimentados dos veces al día hasta saciedad durante 90 días. Para la determinación de la composición corporal de los organismos cada 30 días fueron obtenidas muestras de músculo e hígado.

Los organismos que fueron mantenidos a 20°C de temperatura mostraron tasas de crecimiento más lentas. Así mismo los organismos alimentados con el tratamiento experimental mostraron menores retenciones de proteína en músculo. No hubo cambios en la cantidad de lípidos tanto en músculo como en hígado en ninguno de los tratamientos.

## **Abstract**

Aquaculture is the primary production sector with the highest growth in the last 40 years, this development has led to problems in the supply of inputs for the elaboration of commercial diets, because in its formulation fish oil is still used as the main sources energetic. In consequence, in recent decades, great efforts have been invested to find a substitute, with vegetable flours and oils being the most promising alternatives. On the other hand, a gradual increase in global temperature has been observed, as a result of climate change, being one of the main difficulties currently facing the production of salmonids, since, being ectothermic organisms forced water, it seriously affects different physiological functions. The objective of this work was to evaluate the growth and survival of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with diets with high content of vegetable proteins.

180 juvenile rainbow trout were obtained from "El Zarco" Aquaculture Production Center, which were used in two feeding systems in the Aquaculture Production laboratory of the Iztacala School of Higher Studies, they were closed recirculation with 15 organisms per experimental unit and each treatment it was done in triplicate. An experimental diet with proteins of plant origin (corn gluten, soy protein concentrates and rice protein concentrate) was formulated and contrasted with a commercial diet as a control group (Malta-Cleyton, Biofingerling) at two temperatures 17 ° C and 20 ° C. The organisms were fed twice daily to satiety for 90 days. For the determination of the body composition of the organism every 30 days muscle and liver samples were obtained.

The organisms that were kept at 20 ° C of slower growth temperature. Likewise, organisms fed the experimental diet had lower protein content in muscle. There were no changes in lipid content in both muscle and liver in any treatment.

# ÍNDICE

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Introducción .....</b>  | <b>1</b>  |
| Antecedentes .....   | 6         |
| <b>Justificación.....</b>  | <b>8</b>  |
| <b>Hipótesis .....</b>   | <b>8</b>  |
| <b>Objetivos.....</b>  | <b>9</b>  |
| General.....   | 9         |
| Particulares.....  | 9         |
| <b>Materiales y Métodos .....</b>                                  | <b>10</b> |
| Obtención de organismos.....                                       | 10        |
| Formulación de tratamiento experimental .....                      | 10        |
| Diseño experimental .....  | 12        |
| Pruebas de alimentación .....                                      | 12        |
| Determinación del crecimiento y supervivencia.....                 | 14        |
| Análisis proximales.....   | 15        |
| Análisis estadístico .....   | 15        |
| <b>Resultados.....</b>   | <b>16</b> |
| Parámetros de crecimiento y supervivencia.....                     | 16        |
| <b>Discusión.....</b>  | <b>25</b> |
| <b>Conclusiones.....</b>   | <b>31</b> |
| <b>Referencias .....</b>   | <b>32</b> |
| <b>Anexos.....</b>   | <b>46</b> |
| Anexo 1. Ubicación de la especie y descripción de la especie ..... | 46        |

|   |    |
|---|----|
| Anexo 2. Esquematización del diseño experimental .....      | 47 |
| Anexo 3. Ficha técnica gluten de maíz (Ingredion).....      | 48 |
| Anexo 4. Determinación nitrógeno amoniacal. ....            | 49 |
| Anexo 5. Análisis Químicos proximales .....                 | 50 |
| Cuantificación de proteína por la técnica de Kjeldahl ..... | 50 |
| Lípidos totales por la técnica de Bligh and Dyer, 1959..... | 52 |
| Contenido de humedad .....                                  | 53 |
| Contenido de cenizas .....                                  | 53 |

## INDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Formulación del tratamiento experimental .....                 | 11 |
| Tabla 2. Parámetros de crecimiento .....                                | 17 |
| Tabla 3. Composición de aminoácidos de gluten de maíz (Ingredion) ..... | 48 |

## INDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Ganancia de peso (GP) .....                       | 18 |
| Figura 2. Crecimiento .....                                 | 18 |
| Figura 3. Crecimiento .....                                 | 19 |
| Figura 4. Tasa de conversión alimenticia (TCA) .....        | 19 |
| Figura 5. Tasa de crecimiento específico (TCE) .....        | 20 |
| Figura 6. Coeficiente térmico de crecimiento (CTC) .....    | 20 |
| Figura 7. Tasa de eficiencia proteica .....                 | 21 |
| Figura 8. Proteína en músculo (base húmeda).....            | 22 |
| Figura 9. Lípidos en hígado (base húmeda) .....             | 23 |
| Figura 10. Lípidos en músculo (base húmeda) .....           | 24 |
| Figura 11. Pigmentación de juvenil de trucha arcoíris ..... | 24 |
| Figura 11. Esquematización diseño experimental .....        | 47 |

## Introducción

La acuicultura se define como el mantenimiento de organismos acuáticos bajo condiciones controladas en al menos una etapa de su desarrollo. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2018), la acuicultura ha tenido un crecimiento sostenido de 6.2% anual desde 2000, alcanzando una producción en 2014 de cerca de 73.8 millones de toneladas (160 mil millones de dólares) siendo el sector de producción primaria con mayor proyección, haciendo de este sector productivo una atractiva alternativa a la pesca, puesto que, este último ha alcanzado el límite de capturas desde mediados de los años noventa, por lo que, la acuicultura puede representar una de las alternativas más atractivas para disminuir la presión la pesca ejerce sobre los ecosistemas acuáticos (Natale, et al., 2013) Así mismo, en 2014 la acuicultura por primera vez en la historia sobrepasó la producción por pesca de captura, siguiendo esta tendencia, se prevé que para 2022 la pesca por captura se incrementará un 5% en contraparte con la acuicultura que tiene una proyección de crecimiento del 35% para el mismo año (Ottinger, et al., 2016).

Se ha reportado que la producción de peces en acuicultura sobrepasará a los sistemas de producción bovino, porcino y aves en las próximas décadas, debido a que los organismos acuáticos de manera general pueden convertir de manera más eficiente el alimento suministrado que sus contrapartes terrestres (Han, et al., 2018). En 2015, el pescado representó alrededor del 17% del total de la proteína animal consumida a nivel mundial. Además, proporcionó a unos 3,200 millones de personas casi el 20% de su ingesta per cápita promedio de proteína animal y se prevé que a mediados de siglo más de la mitad de la proteína ingerida en el mundo provendrá de la acuicultura (FAO, 2018).

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es un pez perteneciente a la familia Salmonidae que habita aguas frías, claras y oxigenadas, presenta un cuerpo alargado, comprimido lateralmente, con una coloración grisácea/plateada o verde en la región dorsal dependiendo de la región geográfica en la que se encuentre. La región ventral es blanca y presenta una línea lateral rosada, así como una serie de puntos a lo largo de todo el cuerpo (Adams, 2008), nativo de la vertiente del Pacífico, habitando desde Alaska hasta la Sierra Madre Occidental en México (NRCS, 2000). Esta especie ha sido exitosamente introducida en todo el mundo,

teniendo una producción a nivel global de más de 814,000 toneladas en 2016 (FAO, 2018) Chile, Irán, Noruega, Perú y Turquía son los principales productores que en conjunto aportan cerca del 64% de la producción mundial, cabe destacar el rápido incremento y tecnificación en el cultivo de este pez en las últimas dos décadas, en donde se puede apreciar un crecimiento en tasas constantes del 200 a cerca del 1000% dependiendo de la región (Singh, 2016).

En México, la trucha arcoíris es una de las principales especies acuáticas cultivadas, con una producción en 2017 de 14,197 toneladas ocupando el lugar 18 de las especies más producidas en el país, sin embargo, debido a su alta valorización dentro del mercado se posiciona en el lugar número 8, con un valor de 830 millones de pesos, por esto, se considera una especie de suma importancia para el desarrollo económico del país, siendo los principales productores los estados de Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Puebla, Tamaulipas y Veracruz (CONAPESCA, 2017).

Una de las problemáticas que enfrenta el cultivo de peces carnívoros como es el caso de la trucha arcoíris es el uso harina y aceite de pescado, debido a que continúa siendo el principal insumo de aporte proteico y lipídico en la formulación de alimentos comerciales (Gaylord, et al., 2017). Es ampliamente conocido que, dentro de la producción de alimentos para organismos acuáticos, la proteína es el componente más costoso, representando en algunas ocasiones hasta el 60% del costo total del alimento (Han, et al., 2018), en consecuencia, esto incrementa el precio de la producción, así como la contaminación que se produce a partir de los desechos nitrogenados (Hardy, 2008), debido a que dichos desechos generalmente son vertidos a cuerpos de agua, propiciando su eutrofización (Dauda, et al., 2019).

El precio de la harina de pescado ha fluctuado de 200 a 400 dólares por tonelada métrica en los últimos 20 años, sin embargo, en años recientes los precios sufrieron un incremento acelerado, alcanzando un valor de 1,500 dólares por tonelada métrica (FAO, 2018). Algunos autores indican que el paulatino incremento en el costo de la harina de pescado se debe a la sobrepesca y estiman que para mediados del siglo XXI se colapsarán las pesquerías de todas las especies actualmente explotadas (Worm, et al., 2006). Por esta razón, desde el siglo



pasado se ha trabajado en alternativas al uso de estos insumos, siendo las harinas provenientes de productos de origen vegetal de las principales alternativas (Gaylord, et al., 2017). Sin embargo, el uso de estos componentes puede acarrear problemas en la producción debido a que en su constitución presentan elementos que alteran la respuesta de los organismos, llamados factores anti-nutricionales (Francis, et al., 2001). A su vez, se ha encontrado la presencia de estos factores en las descargas de agua provenientes de las producciones (Kokou & Fountoulaki, 2018). Dentro de las proteínas de origen vegetal más estudiadas se encuentra las provenientes de cebada, canola, maíz, soya, trigo, obteniendo resultados muy variables, en función del nivel de inclusión y la especie que fue utilizada para el estudio (Collins, et al., 2013).

Debido a su alto contenido proteico, su adecuado perfil de aminoácidos, así como su disponibilidad y costo, la harina de soya (*Glycine max* Linnaeus) ha sido ampliamente estudiada en la formulación de alimentos experimentales (Refstie, et al., 2000; Heikkinen, et al., 2006; Gatlin III, et al., 2007; Sealey, et al., 2009; Chen, 2011; Collins, et al., 2012; Collins, et al., 2013). Sin embargo, la inclusión progresiva de harina de soya ha producido problemáticas en el desarrollo de los organismos, tales como un crecimiento lento (Francis, et al., 2001), el acortamiento en las vellosidades del intestino (Heikkinen, et al., 2006), respuestas inflamatorias intestinales (Mansfield, et al., 2010) entre otras. Sin embargo, se ha encontrado que dichas respuestas negativas pueden ser mitigadas fraccionando los componentes de la harina de soya, de donde se obtiene un concentrado cuyo principal componente es proteína (cerca del 70%), además de presentar una reducción de factores anti nutricionales, por lo que la respuesta de los organismos es más favorable (Collins, et al., 2013; Hua, et al., 2019) .

El maíz (*Zea mays* Linnaeus) es el cultivo más representativo de México, debido a que fue en territorio mexicano en donde se domesticó esta planta hace cerca de 12,000 años a partir de una variedad de Teosinte (*Zea perennis*) ubicado en la Sierra Madre Occidental (Kane & Rieseberg, 2005), este cultivo se encuentra estrechamente relacionado con el desarrollo cultural, social, histórico y económico del país (Counihan & Siniscalchi, 2014), actualmente representa el 84.43% de la producción de cereales de México y cerca del 14.47% del PIB

agrícola (CONAPESCA, 2017). A pesar de la importancia de este grano, no todos sus componentes son aprovechados para el consumo humano, como es el caso del gluten, que se extrae a partir del fraccionamiento del grano de maíz en donde además se obtiene harina de germen, almidón de maíz y jarabe de maíz (Ramirez, et al., 2008). Sin embargo, estos productos que no son empleados en la alimentación humana, pueden ser utilizados en otras industrias como en la alimentación de animales de cultivo (Loy & Lundy, 2019). Debido al alto contenido de proteína y el perfil de aminoácidos, se ha empleado gluten de maíz en el cultivo de trucha arcoíris (Jalili, et al., 2013; Saez, et al., 2015; Benedetto, et al., 2017), sin embargo, se ha encontrado que inclusiones mayores al 50% modifica el crecimiento y parámetros inmunológicos de trucha arcoíris (Carrillo-Longoria, et al., 2018).

El concentrado de proteína de arroz (*Oryza sativa* Linneaus) se ha usado en el cultivo de carpa (*Cyprinus carpio*), salmón del atlántico (*Salmo salar*), lenguado (*Scophthalmus maximus*), debido a su alto contenido de proteína cruda (75%) y lípidos (11%), de manera similar ha sido empleado en la fabricación de alimentos experimentales para trucha arcoíris, encontrando que inclusiones mayores del 20% modificaban los parámetros de crecimiento de los organismos (Gasco, et al., 2005; Palmegiano, et al., 2006).

Por otra parte, una las problemáticas para el incremento del volumen de producción de la trucha arcoíris es la temperatura, debido a que son organismos ectotérmicos, esto es, que no pueden regular su temperatura corporal, por lo que cambios en la temperatura del agua afecta directamente la fisiología del organismo; modificando la capacidad catalítica de enzimas intracelulares misma que incrementa la demanda metabólica, sin embargo, con el aumento en la temperatura, disminuye el oxígeno disponible, por lo que los organismos deben compensar la ausencia de oxígeno incrementando su ritmo cardiaco, ocasionando una fuerte inversión de energía (Kurt Gamperl, et al., 2011; Schulte, 2015). Se ha encontrado que el mantenimiento fuera de los límites de la temperatura preferida (entre 9 y 14°C) de este pez, resulta en tasas de crecimiento más lentas, decremento en rendimiento reproductivo y calidad de gametos; expresado en desordenes de desarrollo gonadal, retención y/o degeneración de oocitos (Morgan, et al., 2001; Smith & Hubert, 2003; Ineno, et al., 2005; Crichigno, et al., 2018).

Ante la inminente influencia del cambio climático en los sistemas acuáticos loticos y lenticos, que se refleja en un aumento en la temperatura, así como una disminución en la concentración de oxígeno disuelto en el agua (Williams, et al., 2015). Se han realizado simulaciones del efecto del calentamiento global en el desarrollo de trucha arcoíris, encontrando que un aumento en la temperatura global de 2°C resultaba en una marcada inhibición en el apetito y crecimiento en juveniles de trucha arcoíris (Morgan, et al., 2001). Así mismo, se prevé que la producción de especies de aguas frías como la trucha arcoíris presente mortalidades más altas y menor productividad en los próximos años (Marques, et al., 2014). Por otra parte, a pesar de que actualmente se posee un control relativo de las producciones, se estima que el cambio climático ocasionará irregularidades en las estaciones del año, esto hará técnicamente imposible anticipar sequías o inundaciones, así como alteraciones en el suministro de agua, por lo que regiones en vías de desarrollo, como Latinoamérica o el Sudeste asiático serán más vulnerables ante los efectos del cambio climático que países con industrias más tecnificadas y establecidas (Weatherdon, et al., 2016). Por lo anterior, en distintas regiones del mundo se ha comenzado a trabajar en la selección de organismos resistentes a un rango más amplio de parámetros ambientales para que éstos pueden desarrollarse y reproducirse fuera de los límites preferidos por la especie (Molony, et al., 2004; Ineno, et al., 2005; Ineno, et al., 2019).

Estrés es definido como la respuesta fisiológica, bioquímica y/o conductual de los organismos hacia estímulos del ambiente (estresores) que permitirán lograr el mantenimiento de la homeostasis (Petitjean, et al., 2019). Dependiendo de la intensidad, el estrés puede ser benéfico (Eustrés) cuando el estímulo es moderado, mientras que intensidades más elevadas pueden provocar consecuencias negativas para el individuo (distrés) (Sopinka, et al., 2016). La exposición prolongada y/o repetida a estresores pueden provocar problemas en el crecimiento, desarrollo, respuesta inmune, conducta y reproducción, debido a los costos energéticos requeridos para ensamblar la maquinaria de la respuesta ante el estrés (Viant, et al., 2003; de Francesco, et al., 2004; Vergauwen, et al., 2010). Uno de los principales mecanismos que presentan los organismos para responder ante un estresor, conlleva la intervención de dos sistemas hormonales: el primero es la secreción de corticoesteroides,

principalmente cortisol y el segundo, la producción de catecolaminas como adrenalina y la dopamina (Aluru & Vijayan, 2009; LeBlanc, et al., 2012; Shepherd, et al., 2018).

### **Antecedentes**

Morgan, et al. (2001) evaluaron el efecto de un calentamiento global simulado de 2°C, cambio en pH (acidificación) y la concentración de amonio en el agua en trucha arcoíris. Encontrando que un incremento de 2° modifica la respuesta de los organismos, mermando su crecimiento, así como su apetito.

Sealey, et al. (2013) evaluaron el efecto de la inclusión de proteínas vegetales en el crecimiento, eficiencia de un tratamiento experimental en trucha arcoíris, encontrando que una inclusión de 35% de harina de soya modificaba el crecimiento de los organismos.

Crichigno, et al. (2018) evaluaron el rendimiento en el crecimiento, condición, temperatura preferida y tolerancia ante un estrés térmico de dos líneas genéticas de trucha arcoíris (expuestas a distintas condiciones ambientales). Encontrando que aquellos organismos que habían sido expuestos durante generaciones a temperaturas más elevadas contaban una resistencia heredable sin embargo se presenta un *trade off* entre el crecimiento y la tolerancia térmica.

Kutluyer, et al. (2017) evaluaron el efecto en el reemplazo de aceite y harina de pescado por aceites y proteínas vegetales en el crecimiento y expresión de genes en trucha arcoíris. Encontrando que la inclusión progresiva de aceites y proteínas vegetales modificaba la respuesta de trucha arcoíris.

Alcocer-García (2017) Determinó el efecto de dos tratamientos experimentales con concentrados de proteínas vegetales (arroz, gluten de maíz y soya) en el crecimiento, composición proximal, digestibilidad y respuesta inmune no específica. Para lo cual realizó una prueba de alimentación empleando 2 alimentos experimentales: vegetal (100% proteína vegetal) y Veg+pesc (85% p. vegetal + 15% p. animal). Observando que no existieron diferencias significativas los parámetros de crecimiento evaluados (PF, GP, TCE, TCA, TED

y TEP), así como en la deposición de proteína en músculo, así mismo no se encontraron diferencias significativas en la actividad de lisozima, ni en la concentración de proteína en sangre.

Trujano-Rodriguez (2018) evaluó el efecto de un un tratamiento experimental con concentrados de proteínas vegetales (arroz, gluten de maíz y soya) en el crecimiento, parámetros hematológicos y química sanguínea en crías de trucha arcoíris. Para lo cual realizó una prueba de alimentación empleando 2 alimentos experimentales: vegetal (100% proteína vegetal) y Veg+pesc (90% p. vegetal + 10%p. animal). Encontrando que ambos tratamientos se comportaron de manera similar en los parámetros de crecimiento medidos (GP, TCE, TCA). Así mismo no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de proteínas y lípidos en músculo e hígado. Por otra parte, se observó una mayor cantidad de triglicéridos y glucosa en el tratamiento con 90% de sustitución de harina de pescado.

## **Justificación**

Hasta el presente año no se han reportado trabajos en México en los cuales se aborden temas sobre la respuesta de trucha arcoíris alimentadas con proteínas vegetales ante un incremento de temperatura, por lo que este tipo de experimentos sentarían las bases para el establecimiento de proyectos de investigación relacionados con esta problemática.

## **Hipótesis**

Debido a los hábitos alimenticios de la trucha arcoíris, al ser alimentado con proteínas de origen vegetal no metabolizará de manera adecuada dichas proteínas y deberá responder por medio de otras rutas metabólicas para cubrir sus necesidades fisiológicas, por lo que se verá afectada su capacidad para adaptarse a un cambio de temperatura, ya que estará invirtiendo más recursos en la asimilación del alimento.

## **Objetivos**

### **General**

- Evaluar el crecimiento y supervivencia de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas con un tratamiento experimental con alto contenido de proteínas vegetales ante estrés térmico crónico.

### **Particulares**

- Determinar el efecto de un estrés térmico crónico en la supervivencia y crecimiento de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)
- Determinar la composición proximal del cuerpo de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

## **Materiales y Métodos**

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Producción acuícola, perteneciente a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México.

### **Obtención de organismos**

180 juveniles de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) fueron obtenidos del centro de producción acuícola “El Zarco” ubicado en Carretera Toluca – México, km 32, CP: 52743 Estado de México. Los organismos fueron colocados en tanques circulares de 1,000 litros con aireación y filtración continua, durante 3 semanas para que se aclimataran a las condiciones ambientales de la región, tiempo durante el cual fueron alimentados con alimento comercial (Malta-Cleyton, Biofingerling®).

### **Formulación de tratamiento experimental**

Se diseñó un tratamiento experimental (**Tabla 1**) para contener un mínimo de 40% de proteína cruda, siguiendo los requerimientos nutricionales de trucha arcoíris (Jobling, 2012). El alimento experimental fue elaborado de acuerdo a Cruz Castro, et al. (2011) en donde se ciernen y homogenizan los ingredientes sólidos (harinas) utilizando una mezcladora Kitchen Aid® (modelo Pro 450), posteriormente se incorporan los aceites a la mezcla y finalmente se agrega agua purificada de forma gradual hasta formar una masa consistente, misma que se procesa a través de un molino TORREY® (modelo M-12-FS) utilizando una criba de 5 mm de diámetro para formar pellets. Posteriormente, los pellets resultantes son colocados en un horno Prendo® (modelo HSCF-46) a una temperatura de 60°C durante 24 horas. Una vez secos los pellets se guardan en bolsas herméticas y se almacenan en un congelador comercial Criotec® (modelo CTC-05) a -24°C hasta su uso. El tratamiento experimental formulado contiene un contenido energético teórico de 16.74 KJ g<sup>-1</sup> que se aproxima a los 17 KJ g<sup>-1</sup> recomendado para trucha arcoíris por el National Research Council (NRC, 2011).



**Tabla 1.** Formulación del tratamiento experimental, los resultados en la composición proximal son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar.

| <b>Ingrediente</b>                        | <b>(g/kg)</b>    |
|---|------------------|
| <b>Concentrado proteína de arroz</b>      | 200              |
| <b>Concentrado proteína soya</b>          | 200              |
| <b>Gluten de maíz<sup>1</sup></b>         | 150              |
| <b>Aceite de pescado</b>                  | 100              |
| <b>Lecitina de soya</b>                   | 50               |
| <b>Dextrina<sup>2</sup></b>               | 100              |
| <b>Mezcla vitaminas y minerales</b>       | 40               |
| <b>Gluten de trigo<sup>3</sup></b>        | 50               |
| <b>Alfa-celulosa<sup>4</sup></b>          | 110              |
| <b>Composición proximal (Peso seco %)</b> |                  |
| <b>Proteína</b>                           | 49.52 $\pm$ 0.80 |
| <b>Lípidos</b>                            | 9.61 $\pm$ 1.7   |
| <b>Cenizas</b>                            | 11.11 $\pm$ 0.84 |
| <b>Humedad</b>                            | 8.24 $\pm$ 0.14  |
| <b>Energía (KJ g<sup>-1</sup>)</b>        | 16.7427          |

<sup>1</sup>Ingrideon México S.A. De C.V. México  
<sup>2</sup>Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA. D2131  
<sup>3</sup>Sigma Aldrich Co., St. Louis Mo, EUA. G5004  
<sup>4</sup>Sigma Aldrich Co., St. Louis, Mo. EUA. C8002

## **Diseño experimental**

El diseño experimental se describe a continuación: un grupo mantenido a 20°C, alimentado con el tratamiento experimental (E20) y otro grupo alimentado con alimento comercial (C20). Así mismo, se tuvieron otros dos grupos, el primero fue alimentado con tratamiento experimental (E17) y el segundo fue alimentado con alimento comercial (C17), ambos fueron mantenidos a 17°C (Anexo 2).

## **Pruebas de alimentación**

Se realizaron dos pruebas de alimentación con una duración de 90 días cada una, la primera fue realizada de noviembre de 2018 a enero del 2019 y la segunda prueba de alimentación se realizó de enero del 2020 a marzo del 2020.

Después de que los organismos fueron aclimatados a las condiciones del laboratorio, se seleccionaron de forma homogénea 90 individuos con un peso promedio de  $6g \pm 0.02 g$  para la primera prueba de alimentación y con un peso promedio de  $2.16g \pm 0.02$  para los organismos usados en la segunda prueba de alimentación. Mismos que fueron colocados en tanques de fibra de vidrio con una capacidad de 40 litros (15 organismos por tanque) dentro de un sistema de recirculación cerrado; equipado con aireación y filtración continua, dentro de un cuarto con temperatura controlada mediante un sistema de aire acondicionado, así mismo se controló el ciclo de luz 14:10 utilizando un temporizador y lámparas fluorescentes.

Posteriormente, se incrementó la temperatura del sistema de recirculación utilizando termostatos (Sunny 200w) a razón de 1°C por día hasta alcanzar 20°C para la primera prueba de alimentación y 17°C para la segunda prueba de alimentación. Una vez conseguida dichas temperaturas, se iniciaron las prueba de alimentación, en donde cada 10 días se realizó una biometría en la cual se pesaban los organismos en grupos de 5, ajustando la ración a la biomasa total del tanque (ración 6%). El alimento fue ofrecido diariamente a las 9:30 a.m. y a las 5:00 p.m. por aproximadamente 45 minutos, siguiendo el método descrito por Gaylord, et al. (2017) en donde pequeñas cantidades de alimento son suministradas al tanque hasta que la totalidad del alimento es consumido, posteriormente se suministra otra pequeña dosis,

hasta que la alimentación por parte de los organismos cese. El alimento remanente en los contenedores es pesado al final de cada día para obtener el total del alimento consumido.

Las variables fisicoquímicas del agua durante las dos pruebas de alimentación fueron mantenidas dentro de los siguientes parámetros: oxígeno disuelto (OD) 5.59 - 6.73 mg L<sup>-1</sup>; temperatura 20°C ± 0.3 (primera prueba alimentación) y 17°C ± 0.35 (segunda prueba de alimentación); amonio total (N-NH<sub>3</sub>) 0.02 – 0.03 mg L<sup>-1</sup>; pH 7.89 – 8.02.

La temperatura fue determinada usando un termómetro digital marca Hanna (HI98501 Checktemp®), el oxígeno disuelto y pH fue determinado usando un medidor multiparamétrico marca YSI® (556 MPS). El amonio total fue determinado mediante la técnica de Nessler (método 8083, Reactivos Hach, Hach CO. Colorado, USA) usando un espectrofotómetro marca Hach (DR 2800).

## Determinación del crecimiento y supervivencia

Al término de las pruebas de alimentación se evaluaron los siguientes parámetros de crecimiento en juveniles de trucha arcoíris:

### Ganancia en peso (GP) (g)

$$GP = \frac{(PF - PI)}{PI} \times 100$$

Donde PF=peso final, PI=peso inicial

### Tasa de conversión alimenticia (TCA)

$$TCA = \frac{a}{GPC}$$

Donde a= total alimento consumido (g) GPC= Ganancia en peso corregido (g)

La ganancia de peso se corrige en función de la mortalidad y se calcula según lo descrito por Kitabayashi (1971)

### Ganancia de Peso Corregido (GPC)

$$Biomasa\ Final + \left( \frac{Peso\ promedio\ final + peso\ promedio\ inicial}{2} * No.\ de\ muertos \right) - biomasa\ inicial$$

### Tasa de crecimiento específico (TCE) (%/día)

$$TCE = \frac{\ln(PF) - \ln(PI)}{t} \times 100$$

Donde PF= peso final, PI= peso inicial, *t* = Duración experimento

### Coefficiente térmico de crecimiento (CTC)

$$CTC = \frac{PF^{(1/3)} - PI^{(1/3)}}{T \times t} * 1000$$

Donde PF= peso final PI= peso inicial T= temperatura del agua (°C) t= duración experimento

### Tasa de eficiencia proteica (TEP)

$$TEP = \frac{GPC}{P}$$

Donde GP= ganancia de peso corregida P=proteína cruda suministrada (cantidad alimento suministrado \* porcentaje proteína alimento / 100)

## **Análisis proximales**

Se determinó el contenido proteico de los alimentos empleados durante la experimentación, así como de músculo e hígado provenientes de juveniles de trucha arcoíris: siguiendo las técnicas de la Association of Analytical Communities (AOAC, 1990). El contenido de lípidos en músculo, hígado y alimentos fue determinado con la técnica de extracción por Cloroformo metanol (Bligh & Dyer, 1959).

## **Análisis estadístico**

Los datos se comprobaron para normalidad con la prueba W de Shapiro & Wilk, así como para homocedasticidad con la prueba de Bartlett. De acuerdo con los resultados obtenidos, los datos se procesaron por un ANOVA de dos variables (temperatura y alimento) o en su defecto un ANOVA de una vía cuando los datos no permitieran una comparación de dos variables, finalmente se realizó una prueba post-hoc de Tukey cuando se encontraron diferencias significativas.

## Resultados

### Parámetros de crecimiento y supervivencia

Los parámetros de crecimiento que fueron obtenidos al termino de ambas pruebas de alimentación se muestran en la **Tabla 2**. La mayor ganancia de peso (%) se presentó con los organismos que fueron alimentados a 17°C, siendo aquellos mantenidos con alimento comercial (C17) los que presentaron la tasa de crecimiento más acelerada (**Figura 1**) con una ganancia de peso del 1,108.98%, sin embargo, los organismos que fueron mantenidos con alimento experimental a 17°C (E17) experimentaron una ganancia de peso de 600% siendo significativamente mayor que sus contrapartes alimentados a 20°C (C20 y E20) en donde las tasas de crecimiento fueron de 300% aproximadamente.

No existieron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos respecto a la tasa de conversión alimenticia (TCA). Por lo que la temperatura ni el alimento suministrado modificó la capacidad para asimilar el alimento por parte de los organismos (**Figura 4**).

En consecuencia, la Tasa de crecimiento específico (TCE) fue significativamente mayor en los tratamientos mantenidos a 17°C, siendo C17 el que presentó la mayor tasa con  $1.45 \pm 0.79\%$  por día, mientras que E17 obtuvo  $1.99 \pm 1.01\%$  por día. Así mismo, no se observaron diferencias significativas en TCE entre los tratamientos mantenidos a 20°C. (**Figura 5**).

Por otra parte, los resultados del coeficiente térmico de crecimiento (CTC) muestran la influencia de la temperatura en el crecimiento de los organismos, el tratamiento C17 mostró un CTC más elevado, siendo significativamente mayor respecto a los otros tratamientos (**Figura 6**).

Así mismo, los datos de la tasa de eficiencia proteica (TEP) nos indican que la temperatura influye de manera significativa en la asimilación de esta biomolécula, puesto que los organismos que fueron alimentados a 20°C mostraron tasas significativamente menores, respecto a los otros grupos experimentales, siendo C17 la que presentó una tasa más elevada y, por lo tanto, más eficiente (**Figura 6**).

**Tabla 2.** Parámetros de crecimiento de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 2 temperaturas (17°C y 20°C) durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $\alpha= 0.05$ ).

|                                      | <b>C17</b>       | <b>E17</b>       | <b>C20</b>       | <b>E20</b>       |
|--------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>TCA<sup>1</sup></b>               | 1.45 $\pm$ 0.79  | 1.99 $\pm$ 1.01  | 1.99 $\pm$ 0.91  | 1.92 $\pm$ 1.71  |
| <b>TCE (%/día)<sup>2</sup></b>       | 2.76 $\pm$ 0.2a  | 2.27 $\pm$ 0.15b | 1.56 $\pm$ 0.10c | 1.68 $\pm$ 0.08c |
| <b>CTC<sup>3</sup></b>               | 1.03 $\pm$ 0.11a | 0.78 $\pm$ 0.07b | 0.66 $\pm$ 0.05b | 0.60 $\pm$ 0.04b |
| <b>TEP<sup>4</sup></b>               | 2.07 $\pm$ 0.81a | 1.57 $\pm$ 1.01b | 1.39 $\pm$ 0.85c | 1.35 $\pm$ 0.74c |
| <b>Supervivencia (%)<sup>5</sup></b> | 75.56 $\pm$ 11   | 80 $\pm$ 11      | 66.67 $\pm$ 10   | 73.33 $\pm$ 10   |

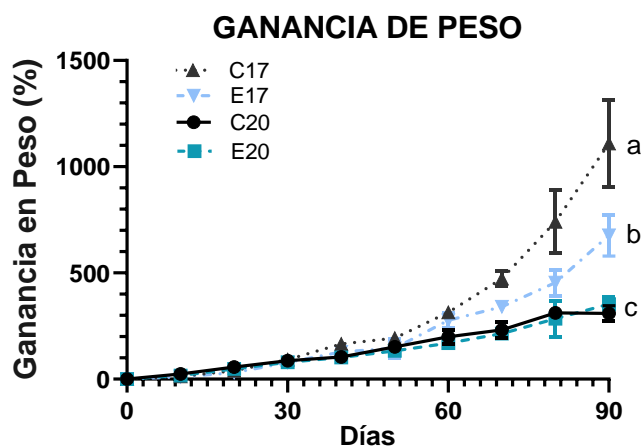
<sup>1</sup>TCA: Tasa de conversión alimenticia = total alimento consumido/ ganancia de peso corregida

<sup>2</sup>TCE: Tasa de crecimiento específico = ((ln peso final – ln peso inicial)/90) x 100

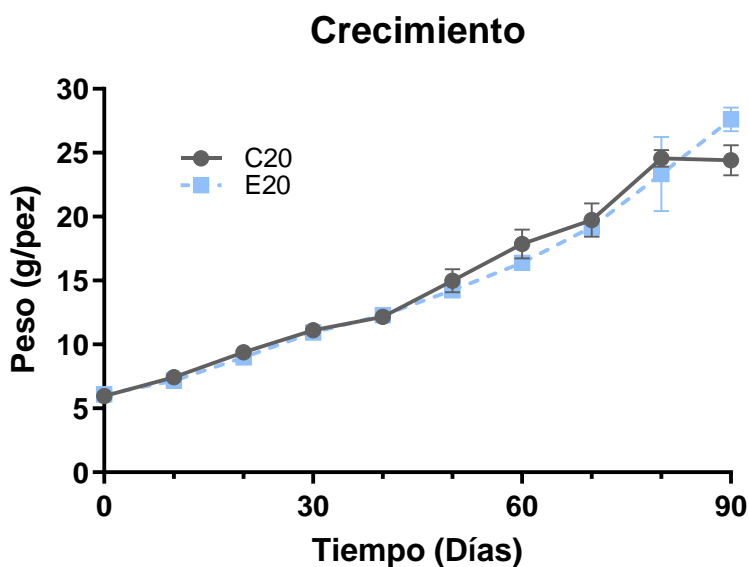
<sup>3</sup>CTC: Coeficiente térmico de crecimiento = (((Peso final)<sup>(1/3)</sup>)-(Peso inicial)<sup>(1/3)</sup>)/(Temperatura\*tiempo)\*1000

<sup>4</sup>TEP: Tasa de eficiencia proteica = Ganancia en peso corregida / ((alimento consumido\*proteína en alimento)/100)

<sup>5</sup>supervivencia= (Número de organismos al final del experimento/número de organismos al inicio del experimento)\*100

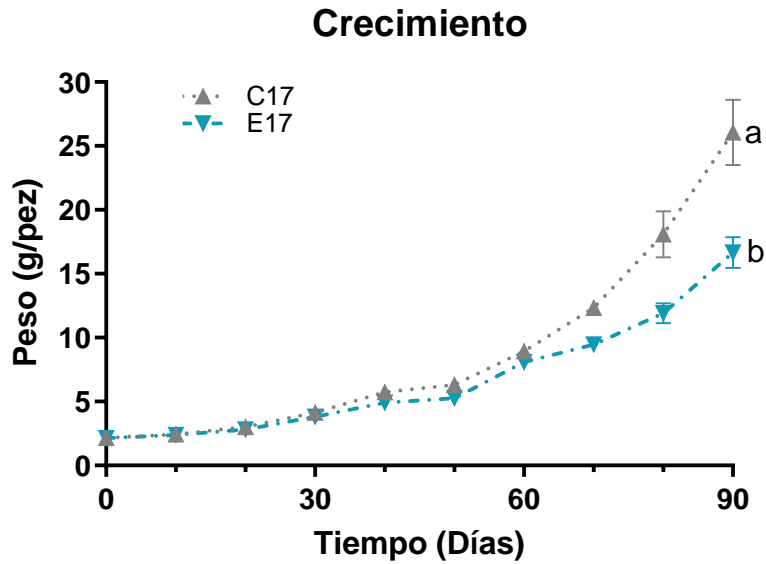


**Figura 1.** Ganancia de peso (GP) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 2 temperaturas (17°C y 20°C) durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar, letras diferentes indican diferencias significativas.

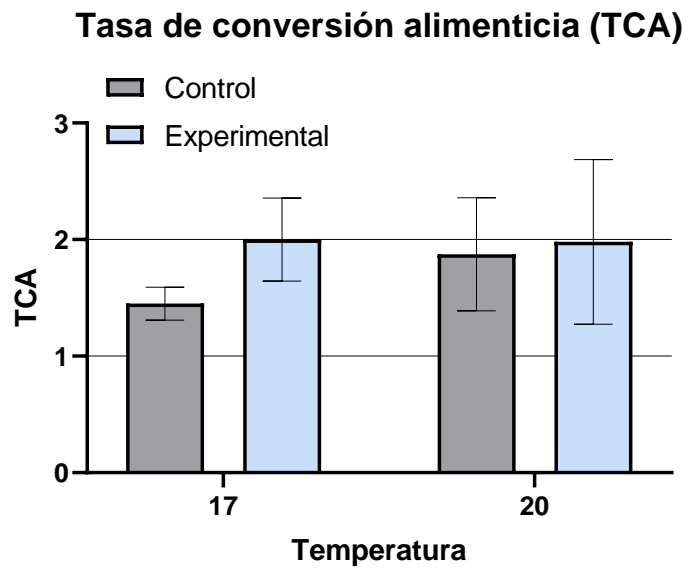


**Figura 2.** Crecimiento de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 20°C. durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar.

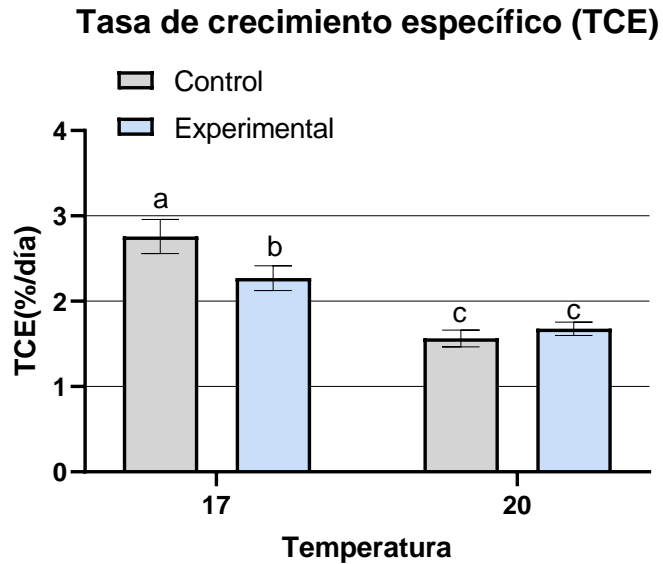




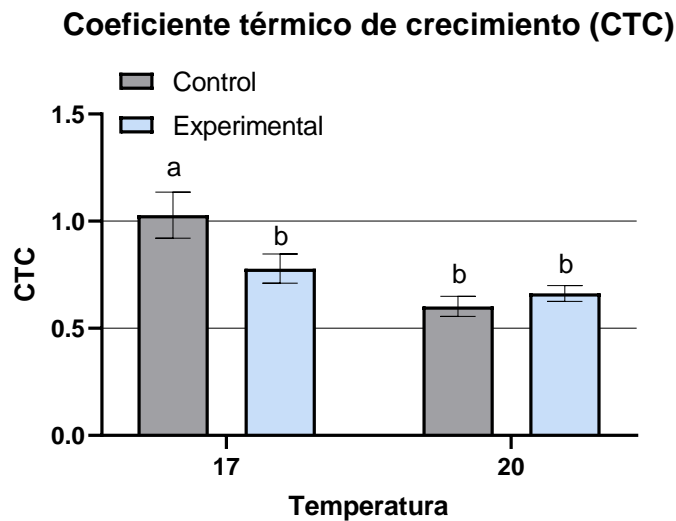
**Figura 3.** Crecimiento de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 17°C durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar, letras diferentes indican diferencias significativas.



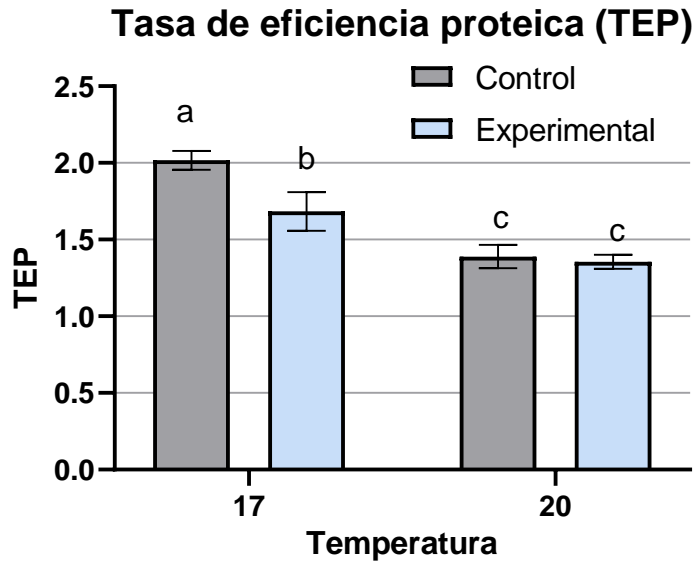
**Figura 4.** Tasa de conversión alimenticia (TCA) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 2 temperaturas (17°C y 20°C) durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar.



**Figura 5.** Tasa de crecimiento específico (TCE) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 2 temperaturas (17°C y 20°C) durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar, letras diferentes indican diferencias significativas.

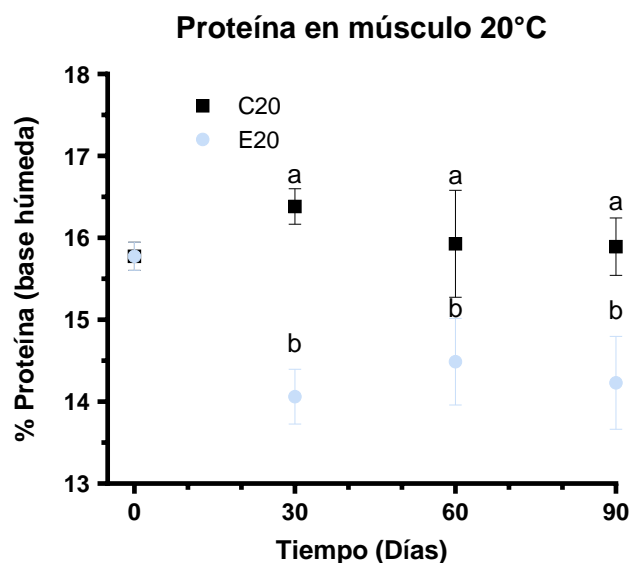


**Figura 6.** Coeficiente térmico de crecimiento (CTC) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 2 temperaturas (17°C y 20°C) durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar, letras diferentes indican diferencias significativas.



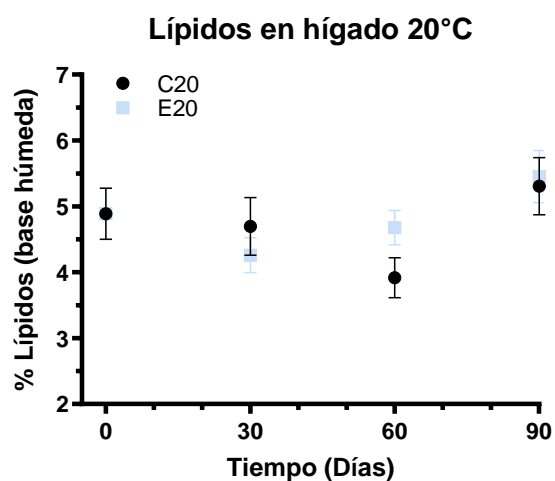
**Figura 7.** Tasa de eficiencia proteica de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 2 temperaturas (17°C y 20°C) durante 90 días. Los datos son la media de grupos por triplicado  $\pm$  desviación estándar, letras diferentes indican diferencias significativas.

En la **Figura 8** se muestran los resultados del contenido de proteína en músculo dorsal de juveniles de trucha arcoíris alimentados a 20°C en donde podemos observar una disminución en el contenido de proteínas en músculo en los organismos que fueron alimentados con el alimento experimental, dicha tendencia se mantuvo a lo largo de todo el experimento.

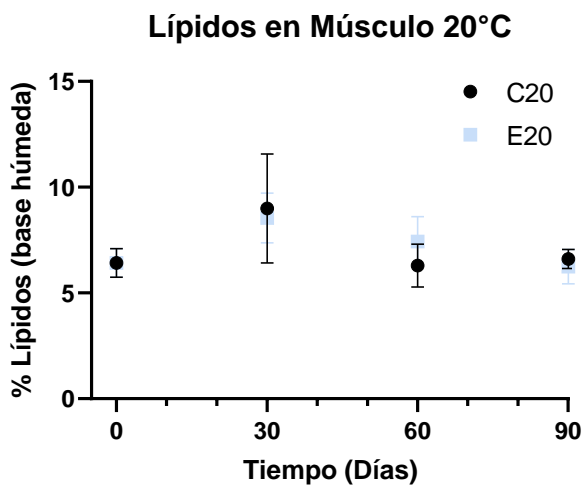


**Figura 8.** Proteína en músculo (base húmeda) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 20°C durante 90 días. Los datos mostrados son la media  $\pm$  error estándar (n=6) letras diferentes indican diferencias significativas.

En la **Figura 9** se muestran los resultados del contenido de lípidos en hígado de juveniles de trucha arcoíris alimentados a 20°C, en donde podemos observar que no hubo cambios en el contenido de lípidos en el hígado entre los grupos experimentales. Esta tendencia se mantuvo a lo largo de todo el experimento, estos mismos resultados los pudimos observar en la acumulación de lípidos en músculo (**Figura 10**), en donde tampoco existieron diferencias entre los grupos experimentales.



**Figura 9.** Lípidos en hígado (base húmeda) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 20°C durante 90 días. Los datos mostrados son la media  $\pm$  error estándar (n=6).



**Figura 10.** Lípidos en músculo (base húmeda) de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantenidas con un alimento comercial (C) y un alimento experimental (E) a 20°C durante 90 días. Los datos mostrados son la media  $\pm$  error estándar (n=6).

Al término de la prueba de alimentación, se observaron diferencias en la pigmentación entre los tratamientos experimentales (arriba) y el grupo control (abajo), dichos cambios fueron más notables en las aletas pectorales, ventrales y anales, así como a lo largo de la línea media (**Figura 11**).



**Figura 11.** Pigmentación de juvenil de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada con el tratamiento experimental (arriba) y grupo control (abajo).

## Discusión

Una de las principales estrategias utilizadas en acuicultura para evaluar el efecto del cambio de alimentación en los organismos es a través de la evaluación de parámetros de crecimiento, siendo la ganancia de peso (GP), la tasa de conversión alimenticia (TCA), tasa de crecimiento específico (TCE), coeficiente térmico de crecimiento (CTC) y Tasa de eficiencia proteica (TEP) las más comunes (From & Rasmussen, 1987; Hopkins, 1992; Dumas, et al., 2008; Dumas, et al., 2010). En el presente estudio, los organismos mantenidos a 17°C y que consumieron alimento comercial hecho a base de harina de pescado mostraron GP significativamente mayores que sus contrapartes mantenidas con el alimento experimental, esto ha sido observado con anterioridad en trucha arcoíris (Craft, et al., 2016).

No se encontraron diferencias significativas en la TCA entre ninguno de los tratamientos, la TCA puede traducirse como la eficiencia en la cual los organismos pueden convertir alimento suministrado en peso, por lo que esto nos indicaría que los organismos pudieron convertir el alimento en peso de igual manera, sin importar la fuente proteica, así como la temperatura en la cual que fueron mantenidos, esto ha sido reportado con anterioridad por distintos autores cuando se utilizaron ingredientes similares en la formulación de tratamientos experimentales (Lu, et al., 2014; Gaylord, et al., 2017).

En el presente estudio la TCE fue significativamente mayor en los grupos mantenidos a 17°C que sus contrapartes mantenidas a 20°C esta situación ha sido reportado con anterioridad (Azevedo, et al., 1998; Myrick & Cech, 2000), puesto que temperatura es uno de los factores ambientales más importantes para el desarrollo de la trucha arcoíris (Matthews & Berg, 1997; Morgan, et al., 2001), ya que al ser un organismo estenotermo, su rango de desarrollo óptimo es muy estrecho (Goyer, et al., 2014). La falta de crecimiento en los organismos mantenidos a temperaturas más elevadas se atribuye a cambios fisiológicos (Liu, et al., 2019), tales como la reducción de la tasa metabólica (Viant, et al., 2003; Hassan, et al., 2019). Así mismo, se ha demostrado que un incremento temperatura induce estrés oxidativo en peces de agua fría, como los pertenecientes al género *Oncorhynchus* (LeBlanc, et al., 2012; Nakano, et al., 2014; Birnie-Gauvin, et al., 2017), mismo que podría devenir en daños en los tejidos de los

organismos; particularmente músculo y branquias (Airaksinen, et al., 1998; Shi, et al., 2015; Sadoul & Vijayan, 2016), sin embargo, los organismos presentan mecanismos celulares para la protección y reparación de tejidos, siendo la producción de proteínas de protección al choque térmico HSP (Heat-shock proteins) de uno de los mecanismos más estudiados (Parsell, et al., 1993; Airaksinen, et al., 1998; Feder & Hofmann, 1999; Iwama, et al., 2004) además, existen otros mecanismos celulares como la reestructuración de las membranas celulares (Farkas, et al., 2001; Kraffe, et al., 2007; Liu, et al., 2018), cambios en el transcriptoma (Logan & Buckley, 2015) y el proteoma (Babaheydari, et al., 2016). Distintos autores aseguran que estos cambios fisiológicos demandan la inversión de grandes cantidades de energía, con el objetivo de mantener de la homeostasis del organismo, por lo que, no se podrá destinar suficientes recursos energéticos para el crecimiento y/o reproducción (Roze, et al., 2013; Crichigno, et al., 2018).

Continuando, la exposición a altas temperaturas tiene diferentes repercusiones en el desarrollo de la trucha arcoíris que varían dependiendo de la intensidad y la duración del estímulo, se reconocen dos tipos de respuestas en estos salmónidos: las respuestas rápidas, mediadas por cortisol cuando la exposición es aguda y de corta duración (Aluru & Vijayan, 2009; Jia, et al., 2016; Li, et al., 2016) misma que induce la producción de mucosa, así como un incremento en la frecuencia cardiaca (Anttila, et al., 2017). Por otra parte, se encuentran las respuestas lentas que se observan frente una exposición crónica del estímulo, éstas modifican el metabolismo (Galbreath, et al., 2006; Vergauwen, et al., 2010) por lo que repercuten en el crecimiento de los organismos, sin embargo, son estas respuestas a largo plazo las que le permiten a los organismos adaptarse y sobrevivir (Morgan, et al., 2001; Narum, et al., 2013; Crichigno & Cussac, 2019).

La selección de ingredientes para la elaboración de tratamientos experimentales que puedan sustituir el uso de harina y aceite de pescado en peces carnívoros como la trucha arcoíris es uno de los principales temas abordados dentro de la investigación en acuicultura. Una de las proteínas alternativas que más ha sido estudiada en el cultivo de trucha arcoíris es la soya. Anteriormente se empleaban sustituciones parciales, obteniendo resultados favorables en el crecimiento, sin embargo, se acota la presencia de factores anti nutricionales que modifican



la capacidad de absorción de nutrientes (Refstie, et al., 2000). Así mismo, autores como Stickney, et al. (1996) utilizaron concentrados de proteína de soya en sustituciones parciales (0 - 470 g/kg) y totales (637 g/kg) de harina de pescado en trucha arcoíris encontrando que las sustituciones totales de proteínas animales por concentrados de proteína de soya resultaban en ganancias de peso significativamente menores que los controles empleados. En el presente estudio, se utilizó concentrado de proteína de soya como una de las 3 fuentes proteicas (200 g/kg) obteniendo ganancias de peso significativamente menores que los controles alimentados con alimento comercial (proteína animal). Caso contrario a lo encontrado por Collins, et al. (2012) en donde realizaron 6 tratamientos experimentales para trucha arcoíris que contenían distintas fuentes proteicas de origen vegetal, entre ellas concentrado de proteína de soya en sustituciones parciales (0 - 275 g/kg) así como sustituciones totales de harina de pescado por concentrados de proteína de soya (300 g/kg), encontrando que los concentrados de proteína utilizados obtuvieron mejores tasas de aprovechamiento, respecto a sus contrapartes no fraccionadas (harinas) se atribuye una mejor respuesta debido a que el fraccionamiento reduce el contenido de oligosacáridos no digeribles, por lo que su contenido energético relativo aumenta (Vielma, et al., 2000). Estos autores no encontraron diferencias en el peso total de los organismos que fueron mantenidos con concentrados de proteína de soya respecto a los controles con harina de pescado, esto se atribuyó al hecho de que los concentrados usados en ese experimento habían sido tratados previamente para remover factores anti nutricionales, en el presente estudio no se realizaron tratamientos previos a los concentrados utilizados en la formulación del tratamiento experimental.

Otra de las fuentes proteicas empleadas en la formulación de los tratamientos experimentales fue el gluten de maíz (200 g/kg). Este insumo fue elegido debido a su alto contenido proteico, así como alta digestibilidad reportada para trucha arcoíris (Benedetto, et al., 2017) sin embargo, se ha reportado con anterioridad que altas inclusiones de gluten de maíz inducen problemas de crecimiento en trucha arcoíris (Jalili, et al., 2013). Esto ha sido atribuido a la presencia de factores anti nutricionales así como un inadecuado balance en el perfil de aminoácidos (Carrillo-Longoria, et al., 2018), lo que podría explicar las tasas de crecimiento más lentas en los tratamientos experimentales del presente estudio. Por otra parte, se observó

una pigmentación anaranjada en los organismos alimentados con el tratamiento experimental, la cual no fue encontrada en el grupo control, esto ha sido reportado con anterioridad por autores como Saez, et al. (2015) quienes mencionan que el gluten de maíz contiene grandes cantidades de carotenoides, los cuales son depositados en distintas zonas del cuerpo como aletas y músculo, otorgando una pigmentación anaranjada rosada a los organismos.

La tercer fuente proteica elegida en este estudio fue el concentrado de proteína de arroz (200 g/kg). A pesar de que este insumo contiene altos contenidos de proteína, su uso no es tan extensivo en la formulación de tratamientos experimentales. Sánchez-Lozano, et al. (2009) realizaron sustituciones parciales de harina de pescado por una combinación de concentrado de proteína de chícharo y concentrado de proteína de arroz (0-575 g/kg) en dorado (*Sparus aurata*), reportando que el crecimiento de los organismos fue similar entre todos los tratamientos. Sin embargo, apuntan que inclusiones mayores a 383 g/kg mostraron una tendencia hacia la disminución en la tasa de crecimiento. Los autores de este estudio sugieren que inclusiones mayores de concentrado de proteína de arroz, deben ser suplementados con aminoácidos.

Distintos autores han trabajado en la formulación de alimentos para trucha arcoíris utilizando una combinación de diversas fuentes proteicas de origen vegetal. Barrows, et al. (2007) evaluaron tratamientos experimentales utilizando una mezcla de proteína de soya y concentrado de proteína de arroz en el crecimiento de trucha arcoíris, encontrando que estos tratamientos tuvieron crecimientos ligeramente inferiores a aquellos organismos alimentados con harina de pescado. Así mismo Gaylord, et al. (2017) utilizaron un alimento experimental que contenía una mezcla de concentrado de proteína de soya, concentrado de proteína de maíz y harina de soya (610 g/kg) en trucha arcoíris, encontrando que a pesar de estar suplementada con aminoácidos, los organismos alimentados con el tratamiento experimental exhibieron crecimientos ligeramente inferiores que los grupos control. Los autores suponen una interacción entre los ingredientes del alimento podría potenciar los efectos anti nutricionales de sus componentes, adicionalmente, Collins, et al. (2012) reportaron la

dificultad de evaluar los efectos de distintas fuentes proteicas en alimentos prácticos para trucha arcoíris, debido a la interacción entre sus componentes.

Habría que mencionar también que, uno de los factores que afectan el consumo de alimentos con alto contenido de productos de origen vegetal en peces carnívoros y, como consecuencia, repercuten en las tasas de aprovechamiento, es la palatabilidad, Pratoomyot, et al. (2010) reportan que la inclusión de componentes de origen vegetal modifican la textura del alimento y provocan una reducción de químicos atrayentes olfativos propios de la harina de pescado.

Se ha reportado que alimentos con bajos niveles de harina de pescado, son deficientes en distintos componentes como la taurina, un aminoácido azufrado que se encuentra en tejidos animales, el cual interviene en diversas funciones fisiológicas como la conjugación de sales biliares, estabilización de membranas celulares, osmorregulación, anti oxidación e inmunomodulación (Salze & Davis, 2015). Se ha reportado que la ausencia de este aminoácido genera problemas en el crecimiento, la supervivencia, así como un incremento en la susceptibilidad ante enfermedades (Hernandez, et al., 2017). Yokoyama & Nakazoe (1992) demostraron la capacidad de la trucha arcoíris para sintetizar taurina a partir de metionina, sin embargo, Wang, et al. (2015) sugieren que, aunque la trucha arcoíris es capaz de sintetizar taurina ontogénicamente se recomienda la adición de este aminoácido en alimentos que sean deficientes en el mismo, debido a que no se conoce por completo el metabolismo de este compuesto. En el presente estudio no se adicionó taurina en la formulación del tratamiento experimental.

Las truchas alimentadas con el tratamiento experimental a 20°C tuvieron acumulaciones menores de proteína en músculo. Overturf & Gaylord (2009) encontraron que las truchas que fueron alimentadas con proteínas vegetales veían incrementada la tasa de degradación de proteínas en músculo. Así mismo Dobby, et al. (2004) reportan que truchas arcoíris que presentan tasas crecimiento menos eficientes, producto de una incorrecta formulación en los componentes de su alimento, muestran tasas más elevadas de síntesis y degradación proteica, atribuido al incremento en la actividad de proteasoma, el cual es un complejo proteico encargado de la degradación de proteínas, esto finalmente conlleva a una disminución en el

crecimiento. Chen (2011) reporta que truchas alimentadas con soya presentan cambios en la estructura del intestino, atribuyendo estos cambios a la presencia de saponinas, que dañan la integridad del tejido, por lo que los organismos deben realizar recambios en los componentes proteicos con mayor frecuencia, lo cual supone una movilización de proteínas que se ve reflejada en una menor cantidad de proteína en los músculos (Lee, et al., 2019).

En el presente trabajo, fue utilizado el método de peletización para la elaboración del alimento experimental, el cual es un proceso en donde los ingredientes son compactados a través de una matriz para producir pequeñas porciones de alimento aglomerado llamado pellet (Regupathi, et al., 2019). Es conocido que el método seleccionado para la fabricación del alimento, influirá en las propiedades fisicoquímicas de éste (Singh, et al., 2007), así mismo, se conoce que la temperatura y presión son factores cruciales en la fabricación de alimentos Aarseth, et al. (2006) reportan que elevar súbitamente la temperatura del pelleta aproximadamente 100°C induce cambios fisicoquímicos en ésta; como la gelatinización del almidón y aglutinantes agregados, así como cambios en la estructura de proteínas y oxidación de lípidos. Sin embargo, estos cambios repentinos en temperatura y presión pueden ser obtenidos mediante extrusión, el cual es un proceso en donde los insumos son forzados a atravesar un ducto en donde son sometidos a altas temperaturas y presiones variables que modifican las propiedades del alimento, tales como su estabilidad, degradación de factores anti nutricionales (Nikmaram, et al., 2017) e incrementan la biodisponibilidad de minerales, así como cambios en la solubilidad de fibra (Alam, et al., 2016).

La correcta elección de ingredientes en los alimentos experimentales es fundamental para el óptimo desarrollo de los organismos. Se ha observado que al realizar sustituciones de harina de pescado en peces carnívoros como la trucha arcoíris, los concentrados y aislados de proteínas de origen vegetal, tienen mejores resultados que al utilizar harinas sin un procesamiento previo (Drew, et al., 2007; Collins, et al., 2013; Craft, et al., 2016). En la formulación del alimento experimental de este estudio, se utilizaron exclusivamente concentrados de proteína.

## **Conclusiones**

Los tratamientos que promovieron mejor el crecimiento fueron aquellos que se mantuvieron a 17°C siendo el grupo control mantenido con el alimento comercial el que presentó una mayor ganancia de peso.

No existieron diferencias en la tasa de conversión alimenticia entre ninguno de los tratamientos, por lo que se concluye que el alimento experimental no modificó la capacidad de los organismos para asimilar el alimento a distintas temperaturas.

Los organismos alimentados con el alimento experimental a 20°C tuvieron menores acumulaciones de proteína en músculo.

No hubo diferencias en la acumulación de lípidos tanto en músculo como en hígado en ninguno de los tratamientos a 20°C.

## Referencias

- Aarseth, K.A., Sørensen, M., Storebakken, T., 2006. Effects of red yeast inclusions in diets for salmonids and extrusion temperature on pellet tensile strength: Weibull analysis. *Animal Feed Science and Technology*. 126, 75-91.
- Adams, P.J., Christopher; Speas, Clay, 2008. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Species and Conservation Assessment, United States of America.
- Airaksinen, S., Råbergh, C.M., Sistonen, L., Nikinmaa, M., 1998. Effects of heat shock and hypoxia on protein synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cells. *J Exp Biol*. 201, 2543-2551.
- Alam, M.S., Kaur, J., Khaira, H., Gupta, K., 2016. Extrusion and Extruded Products: Changes in Quality Attributes as Affected by Extrusion Process Parameters: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 56, 445-475.
- Alcocer-García, R., 2017. Proteínas de origen vegetal en la dieta de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) obtenidas de una granja comercial. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, México, pp. 41.
- Aluru, N., Vijayan, M.M., 2009. Stress transcriptomics in fish: a role for genomic cortisol signaling. *Gen Comp Endocrinol*. 164, 142-150.
- Anttila, K., Mauduit, F., Le Floch, S., Claireaux, G., Nikinmaa, M., 2017. Influence of crude oil exposure on cardiac function and thermal tolerance of juvenile rainbow trout and European sea bass. *Environ Sci Pollut Res Int*. 24, 19624-19634.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15 ed. Association of official analytical chemists, United States of America.
- Azevedo, P.A., Young Cho, C., Leeson, S., Bureau, D.P., 1998. Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Living Resour*. 11, 227-238.

- Babaheydari, S.B., Keyvanshokoo, S., Dorafshan, S., Johari, S.A., 2016. Proteome changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fertilized eggs as an effect of triploidization heat-shock treatment. *Anim Reprod Sci.* 166, 116-121.
- Barrows, F.T., Gaylord, T.G., Stone, D.A.J., Smith, C.E., 2007. Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research.* 38, 1747-1758.
- Benedetto, S., Salvatore, B., Franco, D., Francesco, G., Elisabetta, M., 2017. Corn gluten high level inclusion in farmed trout nutrition: productive and hematological effects and quality of product. *Progress in Nutrition.* 19.
- Birnie-Gauvin, K., Costantini, D., Cooke, S.J., Willmore, W.G., 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. *Fish and Fisheries.* 18, 928-942.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology.* 37, 911-917.
- Carrillo-Longoria, J.A., Sánchez-Ávila, D., Hernández-Hernández, L.H., Ángeles-López, O., Fernández-Araiza, M.A., 2018. Replacement of fish meal with corn gluten in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth and other physiological parameters. *Hidrobiológica.* 28, 257-263.
- Chen, W., 2011. Effects of dietary soybean saponins on feed intake, growth performance, digestibility and intestinal structure in juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture.* v. 318, pp. 95-100-2011 v.2318 no.2011-2012.
- Collins, S.A., Øverland, M., Skrede, A., Drew, M.D., 2013. Effect of plant protein sources on growth rate in salmonids: Meta-analysis of dietary inclusion of soybean, pea and canola/rapeseed meals and protein concentrates. *Aquaculture.* 400-401, 85-100.

- Collins, S.A., Desai, A.R., Mansfield, G.S., Hill, J.E., Van Kessel, A.G., Drew, M.D., 2012. The effect of increasing inclusion rates of soybean, pea and canola meals and their protein concentrates on the growth of rainbow trout: Concepts in diet formulation and experimental design for ingredient evaluation. *Aquaculture*. 344-349, 90-99.
- CONAPESCA, 2017. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. SAGARPA, México, pp. 300.
- Counihan, C., Siniscalchi, V., 2014. *Food Activism: Agency, Democracy and Economy*. Bloomsbury Academic.
- Craft, C.D., Ross, C., Sealey, W.M., Gaylord, T.G., Barrows, F.T., Fornshell, G., Myrick, C.A., 2016. Growth, proximate composition, and sensory characteristics of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* consuming alternative proteins. *Aquaculture*. 459, 223-231.
- Crichigno, S.A., Cussac, V.E., 2019. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) adaptation to a warmer climate: the performance of an improved strain under farm conditions. *Aquaculture International*. 27, 1869-1882.
- Crichigno, S.A., Becker, L.A., Orellana, M., Larraza, R., Mirena, G., Battini, M.A., Cussac, V.E., 2018. Rainbow trout adaptation to a warmer Patagonia and its potential to increase temperature tolerance in cultured stocks. *Aquaculture Reports*. 9, 82-88.
- Cruz Castro, C.A., Hernández Hernández, L.H., Fernández Araiza, M.A., Ramírez Pérez, T., Angeles López, O., 2011. Effects of diets with soybean meal on the growth, digestibility, Phosphorus and Nitrogen excretion of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* %J *Hidrobiológica*. 21, 118-125.
- Dauda, A.B., Ajadi, A., Tola-Fabunmi, A.S., Akinwale, A.O., 2019. Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems. *Aquaculture and Fisheries*. 4, 81-88.
- de Francesco, M., Parisi, G., Médale, F., Lupi, P., Kaushik, S.J., Poli, B.M., 2004. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet



- quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 236, 413-429.
- Dobly, A., Martin, S.A.M., Blaney, S.C., Houlihan, D.F., 2004. Protein growth rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is negatively correlated to liver 20S proteasome activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 137, 75-85.
- Drew, M.D., Borgeson, T.L., Thiessen, D.L., 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Animal Feed Science and Technology*. 138, 118-136.
- Dumas, A., Dijkstra, J., France, J., 2008. Mathematical modelling in animal nutrition: a centenary review. *The Journal of Agricultural Science*. 146, 123-142.
- Dumas, A., France, J., Bureau, D., 2010. Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? *Aquaculture Research*. 41, 161-181.
- FAO, 2018. The State of world Fisheries and Aquaculture, THE STATE OF THE WORLD, ROME.
- Farkas, T., Fodor, E., Kitajka, K., Halver, J.E., 2001. Response of fish membranes to environmental temperature. *Aquaculture Research*. 32, 645-655.
- Feder, M.E., Hofmann, G.E., 1999. HEAT-SHOCK PROTEINS, MOLECULAR CHAPERONES, AND THE STRESS RESPONSE: Evolutionary and Ecological Physiology. *Annual Review of Physiology*. 61, 243-282.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199, 197-227.
- From, J., Rasmussen, G., 1987. A Model of Fish Growth in Aquaculture. *IFAC Proceedings Volumes*. 20, 87-96.

- Galbreath, P.F., Adams, N.D., Sherrill, L.W., Martin, T.H., 2006. Thermal Tolerance of Diploid Versus Triploid Rainbow Trout and Brook Trout Assessed by Time to Chronic Lethal Maximum. *Environmental Biology of Fishes*. 75, 183-193.
- Gasco, L., Palmegiano, G.B., Gai, F., Daprà, F., Sicuro, B., Guo, K., Zoccarato, I., 2005. Use of rice protein concentrate in rainbow trout feeding: preliminary results. *Italian Journal of Animal Science*. 4, 591-593.
- Gatlin III, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., J Souza, E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. 38, 551-579.
- Gaylord, T.G., Sealey, W.M., Barrows, F.T., Myrick, C.A., Fornshell, G., 2017. Evaluation of ingredient combinations from differing origins (fishmeal, terrestrial animal and plants) and two different formulated nutrient targets on rainbow trout growth and production efficiency. *Aquaculture Nutrition*. 23, 1319-1328.
- Goyer, K., Bertolo, A., Pepino, M., Magnan, P., 2014. Effects of lake warming on behavioural thermoregulatory tactics in a cold-water stenothermic fish. *PLoS One*. 9, e92514.
- Han, D., Shan, X., Zhang, W., Chen, Y., Wang, Q., Li, Z., Zhang, G., Xu, P., Li, J., Xie, S., Mai, K., Tang, Q., De Silva, S.S., 2018. A revisit to fishmeal usage and associated consequences in Chinese aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 10, 493-507.
- Hardy, R.W., 2008. Utilization of Plant Proteins in Fish Diets; Effects of Global Demand and Supplies of Grains and Oilseeds, *Avances en Nutrición Acuícola IX*. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, pp. 6-12.
- Hassan, F.U., Nawaz, A., Rehman, M.S., Ali, M.A., Dilshad, S.M.R., Yang, C., 2019. Prospects of HSP70 as a genetic marker for thermo-tolerance and immuno-modulation in animals under climate change scenario. *Anim Nutr*. 5, 340-350.

- Heikkinen, J., Vielma, J., Kemiläinen, O., Tirola, M., Eskelinen, P., Kiuru, T., Navia-Paldanius, D., von Wright, A., 2006. Effects of soybean meal based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 261, 259-268.
- Hernandez, O.E.A., Hernandez, L.H.H., Miyasaka, A.S., Lugo, M.G., 2017. Effects of diets with whole plant-origin proteins added with different ratios of taurine:methionine on the growth, macrophage activity and antioxidant capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Vet Anim Sci*. 3, 4-9.
- Hopkins, K.D., 1992. Reporting Fish Growth: A Review of the Basics. *Journal of the World Aquaculture Society*. 23, 173-179.
- Hua, K., Cobcroft, J.M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D.R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M.J., Zeng, C., Zenger, K., Strugnell, J.M., 2019. The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets. *One Earth*. 1, 316-329.
- Ineno, T., Tsuchida, S., Kanda, M., Watabe, S., 2005. Thermal tolerance of a rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* strain selected by high-temperature breeding. *Fisheries Science*. 71, 767-775.
- Ineno, T., Tamaki, K., Yamada, K., Kodama, R., Tan, E., Kinoshita, S., Muto, K., Yada, T., Kitamura, S., Asakawa, S., Watabe, S., 2019. Evaluation of the thermal tolerances of different strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by measuring the effective time required for loss of equilibrium at an approximate upper lethal temperature. *Fisheries Science*. 85, 839-845.
- Iwama, G.K., Afonso, L.O., Todgham, A., Ackerman, P., Nakano, K., 2004. Are hsp90 suitable for indicating stressed states in fish? *J Exp Biol*. 207, 15-19.
- Jalili, R., Tukmechi, A., Agh, N., Noori, F., Ghasemi, A., 2013. Replacement of dietary fish meal with plant sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) effect on growth performance, immune responses, blood indices and disease resistance %J *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 12, 577-591.

- Jia, Y., Cavileer, T.D., Nagler, J.J., 2016. Acute hyperthermic responses of heat shock protein and estrogen receptor mRNAs in rainbow trout hepatocytes. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 201, 156-161.
- Jobling, M., 2012. National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. *Aquaculture International.* 20, 601-602.
- Kane, N.C., Rieseberg, L.H., 2005. Maize Genetics: The Treasure of the Sierra Madre. *Current Biology.* 15, R137-R139.
- Kokou, F., Fountoulaki, E., 2018. Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. *Aquaculture.* 495, 295-310.
- Kraffe, E., Marty, Y., Guderley, H., 2007. Changes in mitochondrial oxidative capacities during thermal acclimation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: roles of membrane proteins, phospholipids and their fatty acid compositions. *J Exp Biol.* 210, 149-165.
- Kurt Gamperl, A., Swafford, B.L., Rodnick, K.J., 2011. Elevated temperature, per se, does not limit the ability of rainbow trout to increase stroke volume. *Journal of Thermal Biology.* 36, 7-14.
- Kutluyer, F., Sirkecioğlu, A.N., Aksakal, E., Aksakal, F.İ., Tunç, A., Günaydin, E., 2017. Effect of Dietary Fish Oil Replacement with Plant Oils on Growth Performance and Gene Expression in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science.* 17, 1135-1153.
- LeBlanc, S., Hoglund, E., Gilmour, K.M., Currie, S., 2012. Hormonal modulation of the heat shock response: insights from fish with divergent cortisol stress responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 302, R184-192.
- Lee, S., Masagounder, K., Hardy, R.W., Small, B.C., 2019. Effects of lowering dietary fishmeal and crude protein levels on growth performance, body composition, muscle metabolic gene expression, and chronic stress response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 513.

- Li, Z., Liu, Z., Wang, Y.N., Kang, Y.J., Wang, J.F., Shi, H.N., Huang, J.Q., Jiang, L., 2016. Effects of heat stress on serum cortisol, alkaline phosphatase activity and heat shock protein 40 and 90 $\beta$  mRNA expression in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Biologia*. 71.
- Liu, C., Zhou, Y., Dong, K., Sun, D., Gao, Q., Dong, S., 2018. Differences in fatty acid composition of gill and liver phospholipids between Steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) under declining temperatures. *Aquaculture*. 495, 815-822.
- Liu, Y., Liu, J., Ye, S., Bureau, D.P., Liu, H., Yin, J., Mou, Z., Lin, H., Hao, F., 2019. Global metabolic responses of the lenok (*Brachymystax lenok*) to thermal stress. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics*. 29, 308-319.
- Logan, C.A., Buckley, B.A., 2015. Transcriptomic responses to environmental temperature in eurythermal and stenothermal fishes. *J Exp Biol*. 218, 1915-1924.
- Loy, D.D., Lundy, E.L., 2019. Chapter 23 - Nutritional Properties and Feeding Value of Corn and Its Coproducts. in: Serna-Saldivar, S.O. (Ed.), *Corn (Third Edition)*. AACC International Press, Oxford, pp. 633-659.
- Lu, F., Haga, Y., Satoh, S., 2014. Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*. 81, 95-105.
- Mansfield, G.S., Desai, A.R., Nilson, S.A., Van Kessel, A.G., Drew, M.D., Hill, J.E., 2010. Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestinal microbiota and inflammatory marker gene expression in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture*. 307, 95-104.
- Marques, A., Rosa, R., Nunes, M.L., 2014. Seafood Safety and Human Health Implications. in: Goffredo, S., Dubinsky, Z. (Eds.), *The Mediterranean Sea: Its history and present challenges*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 589-603.

- Matthews, K.R., Berg, N.H., 1997. Rainbow trout responses to water temperature and dissolved oxygen stress in two southern California stream pools. *Journal of Fish Biology*. 50, 50-67.
- Molony, B.W., Church, A.R., Maguire, G.B., 2004. A comparison of the heat tolerance and growth of a selected and non-selected line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in Western Australia. *Aquaculture*. 241, 655-665.
- Morgan, I.J., McDonald, D.G., Wood, C.M., 2001. The cost of living for freshwater fish in a warmer, more polluted world. *Global Change Biology*. 7, 345-355.
- Myrick, C.A., Cech, J.J.J., 2000. Temperature influences on California rainbow trout physiological performance. *Fish Physiology and Biochemistry*. 22, 245-254.
- Nakano, T., Kameda, M., Shoji, Y., Hayashi, S., Yamaguchi, T., Sato, M., 2014. Effect of severe environmental thermal stress on redox state in salmon. *Redox Biol*. 2, 772-776.
- Narum, S.R., Campbell, N.R., Meyer, K.A., Miller, M.R., Hardy, R.W., 2013. Thermal adaptation and acclimation of ectotherms from differing aquatic climates. *Mol Ecol*. 22, 3090-3097.
- Natale, F., Hofherr, J., Fiore, G., Virtanen, J., 2013. Interactions between aquaculture and fisheries. *Marine Policy*. 38, 205-213.
- Nikmaram, N., Leong, S.Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F.J., Greiner, R., Oey, I., Roohinejad, S., 2017. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. *Food Control*. 79, 62-73.
- NRC, 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. The National Academies Press, Washington, DC.
- NRCS, 2000. *Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss)*. in: USDA (Ed.). *USDA, United States of America*, pp. 25-32.

- Ottinger, M., Clauss, K., Kuenzer, C., 2016. Aquaculture: Relevance, distribution, impacts and spatial assessments – A review. *Ocean & Coastal Management*. 119, 244-266.
- Overturf, K., Gaylord, T.G., 2009. Determination of relative protein degradation activity at different life stages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 152, 150-160.
- Palmegiano, G.B., Daprà, F., Forneris, G., Gai, F., Gasco, L., Guo, K., Peiretti, P.G., Sicuro, B., Zoccarato, I., 2006. Rice protein concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 258, 357-367.
- Parsell, D.A., Taulien, J., Lindquist, S., 1993. The role of heat-shock proteins in thermotolerance. in: Ellis, R.J., Laskey, R.A., Lorimer, G.H. (Eds.), *Molecular Chaperones*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 23-30.
- Petitjean, Q., Jean, S., Gandar, A., Cote, J., Laffaille, P., Jacquin, L., 2019. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes. *Sci Total Environ*. 684, 371-380.
- Pratoomyot, J., Bendiksen, E.Å., Bell, J.G., Tocher, D.R., 2010. Effects of increasing replacement of dietary fishmeal with plant protein sources on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. 305, 124-132.
- Ramirez, E.C., Johnston, D.B., McAloon, A.J., Yee, W., Singh, V., 2008. Engineering process and cost model for a conventional corn wet milling facility. *Industrial Crops and Products*. 27, 91-97.
- Refstie, S., Korsøen, Ø.J., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Lein, I., Roem, A.J., 2000. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 190, 49-63.
- Regupathi, E.R., Suriya, A., Geethapriya, R., 2019. On studying different types of pelletizing system for fish feed.

- Roze, T., Christen, F., Amerand, A., Claireaux, G., 2013. Trade-off between thermal sensitivity, hypoxia tolerance and growth in fish. *Journal of Thermal Biology*. 38, 98-106.
- Sadoul, B., Vijayan, M.M., 2016. 5 - Stress and Growth. in: Schreck, C.B., Tort, L., Farrell, A.P., Brauner, C.J. (Eds.), *Fish Physiology*. Academic Press, pp. 167-205.
- Saez, P.J., Abdel-Aal, E.-S.M., Bureau, D.P., 2015. Reduction of carotenoids in corn gluten meal: Effects on growth performance and muscle pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Animal Science*. 95, 79-92.
- Salze, G.P., Davis, D.A., 2015. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture*. 437, 215-229.
- Sánchez-Lozano, N.B., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Cerdá, M.J., 2009. Effect of high-level fish meal replacement by pea and rice concentrate protein on growth, nutrient utilization and fillet quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.). *Aquaculture*. 298, 83-89.
- Schulte, P.M., 2015. The effects of temperature on aerobic metabolism: towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment. 218, 1856-1866.
- Sealey, W.M., Barrows, F.T., Smith, C.E., Overturf, K., LaPatra, S.E., 2009. Soybean meal level and probiotics in first feeding fry diets alter the ability of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to utilize high levels of soybean meal during grow-out. *Aquaculture*. 293, 195-203.
- Sealey, W.M., Barrows, F.T., Smith, C.E., Wacyk, J.M., Powell, M.S., Hardy, R.W., Shelden, E.A., 2013. Heat Shock Protein Regulation in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, is Altered by Dietary Soybean Meal Inclusion and Anti-Phospholipase A2 Antibody. 44, 655-668.
- Shepherd, B.S., Spear, A.R., Philip, A.M., Leaman, D.W., Stepien, C.A., Sepulveda-Villet, O.J., Palmquist, D.E., Vijayan, M.M., 2018. Effects of cortisol and lipopolysaccharide



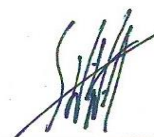
- on expression of select growth-, stress- and immune-related genes in rainbow trout liver. *Fish Shellfish Immunol.* 74, 410-418.
- Shi, H.N., Liu, Z., Zhang, J.P., Kang, Y.J., Wang, J.F., Huang, J.Q., Wang, W.M., 2015. Short Communication: Effect of heat stress on heat-shock protein (Hsp60) mRNA expression in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Genet Mol Res.* 14, 5280-5286.
- Singh, A.K.K., B. S., Kumar, P., 2016. Charting Ways to Invigorate Rainbow Trout Production in India. *Journal of Fisheries Sciences.* 10, 9.
- Singh, S., Gamlath, S., Wakeling, L., 2007. Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science & Technology.* 42, 916-929.
- Smith, M.A., Hubert, W.A., 2003. Simulated Thermal Tempering versus Sudden Temperature Change and Short-Term Survival of Fingerling Rainbow Trout. *North American Journal of Aquaculture.* 65, 67-69.
- Sopinka, N.M., Donaldson, M.R., O'Connor, C.M., Suski, C.D., Cooke, S.J., 2016. 11 - Stress Indicators in Fish. in: Schreck, C.B., Tort, L., Farrell, A.P., Brauner, C.J. (Eds.), *Fish Physiology.* Academic Press, pp. 405-462.
- Stickney, R.R., Hardy, R.W., Koch, K., Harrold, R., Seawright, D., Masee, K.C., 1996. The Effects of Substituting Selected Oilseed Protein Concentrates for Fish Meal in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* Diets. *Journal of the World Aquaculture Society.* 27, 57-63.
- Trujano-Rodriguez, A.A., 2018. Parámetros hematológicos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) alimentadas con dietas con alto contenido de proteína de origen vegetal. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, México, pp. 48.
- Vergauwen, L., Benoot, D., Blust, R., Knapen, D., 2010. Long-term warm or cold acclimation elicits a specific transcriptional response and affects energy metabolism in zebrafish. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 157, 149-157.

- Viant, M.R., Werner, I., Rosenblum, E.S., Gantner, A.S., Tjeerdema, R.S., Johnson, M.L., 2003. Correlation between heat-shock protein induction and reduced metabolic condition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) chronically exposed to elevated temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*. 29, 159-171.
- Vielma, J., Mäkinen, T., Ekholm, P., Koskela, J., 2000. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture*. 183, 349-362.
- Wang, X., He, G., Mai, K., Xu, W., Zhou, H., 2015. Ontogenetic taurine biosynthesis ability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 185, 10-15.
- Weatherdon, L.V., Magnan, A.K., Rogers, A.D., Sumaila, U.R., Cheung, W.W.L., 2016. Observed and Projected Impacts of Climate Change on Marine Fisheries, Aquaculture, Coastal Tourism, and Human Health: An Update. *Frontiers in Marine Science*. 3.
- Williams, J.E., Isaak, D.J., Imhof, J., Hendrickson, D.A., McMillan, J.R., 2015. Cold-Water Fishes and Climate Change in North America, Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences.
- Worm, B., Barbier, E.B., Beaumont, N., Duffy, J.E., Folke, C., Halpern, B.S., Jackson, J.B., 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* (New York, N.Y.). 314, 787-790.
- Yokoyama, M., Nakazoe, J.-I., 1992. Accumulation and excretion of taurine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets supplemented with methionine, cystine and taurine. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 102, 565-568.



---

ASPIRANTE  
Biol. Carrillo Longoria Javier Alonso



---

TUTOR PRINCIPAL PROPONENTE  
Dr. Luis Héctor Hernández Hernández  
Profesor Titular B, T.C., Definitivo  
Laboratorio de Producción Acuícola (Acuario)  
UNAM-Facultad de Estudios Superiores Iztacala



## **Anexos**

### **Anexo 1. Ubicación de la especie y descripción de la especie**

Ubicación taxonómica

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Actinopterygii

Orden: Salmoniformes

Familia: Salmonidae

Subfamilia: Salmoninae

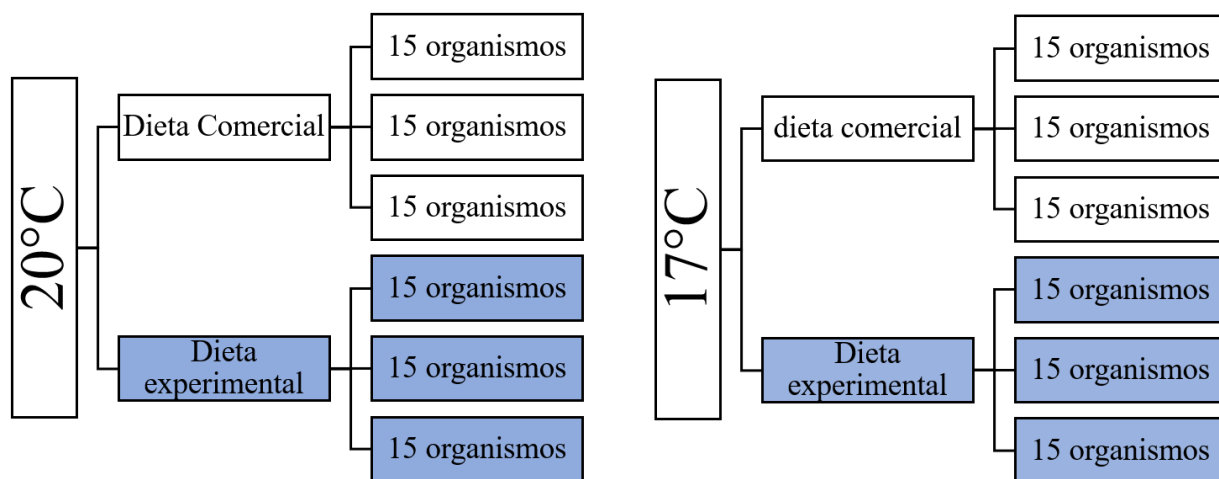
Género: *Oncorhynchus*

Especie: *Oncorhynchus Mykiss*

Descripción de la especie

Cuerpo alargado, de alguna forma comprimido, sin espinas dorsales, 12 radios dorsales, 10-12 radios anales, 19 radios caudales con 60-66 vertebras. La coloración varía de acuerdo con el hábitat, tamaño y condición sexual. Presentan una banda rosada a lo largo de la línea lateral cuando alcanzan la madurez sexual, exhiben una serie de puntos negros por encima de la línea media.

## Anexo 2. Esquematización del diseño experimental



**Figura 11. Esquematización diseño experimental** que se usó en el proyecto.

### **Anexo 3. Ficha técnica gluten de maíz (Ingredion)**

El gluten (proteína) de maíz, obtenida durante el fraccionamiento de maíz por vía húmeda. En este proceso se separa en primer lugar la parte soluble (corn steep) y posteriormente por centrifugación en almidón y gluten. Este último contiene la mayor parte de la proteína del endospermo del grano, junto con pequeñas cantidades de fibra y almidón, no purificadas en el proceso. La proteína de gluten tiene una concentración aceptable de metionina y treonina, pero es deficiente en lisina y triptófano (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Composición de aminoácidos de gluten de maíz (Ingredion)

| <b>AAs</b>       | <b>Composición</b> |            |
|------------------|--------------------|------------|
|                  | <b>(%PB)</b>       | <b>(%)</b> |
| <b>Lys</b>       | 1.70               | 1.02       |
| <b>Met</b>       | 2.50               | 1.50       |
| <b>Met + Cys</b> | 4.30               | 2.58       |
| <b>Tre</b>       | 3.50               | 2.10       |
| <b>Trp</b>       | 0.56               | 0.34       |
| <b>Ile</b>       | 4.05               | 2.43       |
| <b>Val</b>       | 4.60               | 2.76       |
| <b>Arg</b>       | 3.15               | 1.89       |

#### **Anexo 4. Determinación nitrógeno amoniacal.**

##### Método de Nessler

1. Se emplea un espectrofotómetro (HACH) con el programa “380 N Amonia de Ness”
2. Preparar un blanco con: 10 ml de agua destilada, 3 gotas de estabilizador de minerales, 3 gotas de alcohol polivinílico y 1 ml de reactivo de Nessler.
3. Preparar muestras de agua con: 10 ml de agua, 3 gotas de estabilizador de minerales, 3 gotas de alcohol polivinílico y 1ml de reactivo de Nessler.
4. Dejar reposar 1 minuto.
5. Calibrar a cero con el blanco, presionando la opción “Zero”.
6. Introducir muestras y presionar la opción “Read” los resultados se expresan en mg/l de  $\text{NH}_3\text{-N}$

## **Anexo 5. Análisis Químicos proximales**

### **Cuantificación de proteína por la técnica de Kjeldahl**

Esta técnica consta de tres pasos: digestión, destilación y titulación para conocer el estimado de nitrógeno dentro de una muestra. El procesamiento de la muestra toma alrededor de 5 horas para 8 muestras.

Preparar:

- A. Solución neutralizadora de ácidos (scrubber): 2 L NaOH 15%.
- B. Solución álcali: 5 L NaOH 40% que va en el bidón conectado al destilador.
- C. Solución indicadora:
  - I. Solución A: (0.22 g rojo de metilo/100 ml de etanol) + (0.11 g verde de bromocresol/50 ml etanol)
  - II. Solución B: (40 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>/700 ml H<sub>2</sub>O) + 200ml etanol

En un matraz aforado agregar 17 ml de la solución A y agregar la solución B. Aforar a 1 L.

- D. Solución para titulación: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N.
- E. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (96%) 15 ml/muestra.
- F. Verificar que existan suficientes Kjeltabs (2 por muestra).
- G. Configurar destilador: 50 ml NaOH y 5 minutos en el temporizador.

Digestión

1. Agregar la solución neutralizadora de ácidos y agua destilada a los depósitos del Scrubber hasta el nivel indicado.
2. Colocar 1 g de muestra homogenizada en cada tubo, dejando un tubo sin muestra (blanco).
3. Añadir 2 Kjeltabs a cada tubo.
4. Agregar 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a cada tubo.
5. Encender el digestor a 420°C.
6. Colocar los tubos cuando la temperatura alcance los 200°C, colocar extractor de gases e iniciar el programa (digerir por 1 hora).
7. Encender Scrubber cuando el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> comience a evaporarse.
8. Una vez finalizada la digestión esperar a que los tubos se enfríen.
9. Agregar 70 ml de agua destilada a cada tubo.



## Destilación

1. Colocar un tubo limpio con agua destilada a la mitad. En el otro soporte colocar un matraz limpio de 250 ml.
2. Encender el destilador e iniciar purga presionando el botón de en medio. La purga debe realizarse entre cada corrida.
3. Colocar 25 ml de solución indicadora en 8 matraces de 250 ml.
4. Colocar tubo con muestra y en el otro soporte un matraz con solución indicadora, presionar el botón de arranque.
5. Una vez terminada la destilación, desechar el contenido del tubo y reservar el matraz para titular.

## Titulación

1. En constante agitación, titular con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1 N. hasta virar.

## Cálculos

$$\%N = \frac{(Vm - Vb) \cdot F \cdot c \cdot f \cdot M(N) \cdot 100}{(m) \cdot 1000}$$

En donde:

%N= Porcentaje Nitrógeno

Vm= Consumo titulante, muestra (ml)

Vb= Consumo titulante, blanco (ml)

F= Factor molar de reacción (1 = HCl; 2 =  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

c= Concentración titulante [mol/L]

f= Factor titulante (1=  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

M(N)= Peso molecular Nitrógeno (14.007) [g/mol]

m= Peso muestra (g)

$$\%P = \%N \cdot FP$$

%P= Porcentaje proteína

FP= Factor proteína (6.25)

## Lípidos totales por la técnica de Bligh and Dyer, 1959.

### Procedimiento:

Usar guantes para evitar alterar mediciones

1. Lavar viales y tubos de ensayo con jabón libre de fosfatos, posteriormente introducir al sonicador durante 5 minutos.
2. Enjuagar los viales con agua corriente, después con agua destilada y para finalizar con alcohol.
3. Pesar en una balanza analítica los viales.
4. Preparar un vaso de precipitado con cubos de hielo.
5. Colocar en un tubo de ensayo 200 de muestra.
6. Agregar al tubo 1.5ml de cloroformo y 3 ml de metanol, homogenizar por dos minutos.
7. Agregar 1.5 ml de cloroformo y homogenizar por dos minutos.
8. Armar y conectar bomba de vacío.
9. Colocar filtro Fluoropore Membrane Filters (25mm) entre un matraz Kitasato y una probeta graduada con fondo esmerilado.
10. Verter el contenido de los tubos de ensayo, en la probeta y esperar a que se filtre la muestra hacia el matraz Kitasato.
11. Verter el contenido de cada muestra en un embudo de separación.
12. Agregar 0.8ml de agua destilada manteniendo una proporción de 0.8:1:1 de agua-cloroformo-metanol.
13. Agitar vigorosamente y dejar reposar unos segundos para que se formen dos fases; sino se formaran las dos fases, agua destilada gota por gota hasta que se formen.
14. Verter la fase más densa en un vial y pesar.
15. Poner a secar los viales bajo una corriente de aire constante hasta que se evapore la parte líquida.
16. Pesar viales.

$$\% \text{ lípidos totales} = \left( \frac{\text{Peso total de los lípidos}}{\text{Peso de la muestra seca}} \right) \times 100$$

## Contenido de humedad

Usar guantes para evitar alterar las mediciones

1. Eliminar la humedad de los crisoles de aluminio en el horno de convección por 2 horas aproximadamente para evitar variaciones en la medición.
2. Obtener el peso inicial de la muestra
3. Poner a secar la muestra en un horno de convección a  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 4 horas
4. Sacar la muestra del horno y pesar
5. introducir la muestra nuevamente en el horno por una hora
6. sacar la muestra del horno y pesar.
7. Si el peso de la muestra en el paso 6 es diferente del peso de la muestra en el paso 4 continuar secando a intervalos de una hora hasta que el peso sea constante y este valor será peso final. Obtener el porcentaje de humedad total.

Cálculos:

$$\text{Humedad total (\%)} = \frac{(PI - PF)}{PF} \times 100$$

Dónde: PI=Peso inicial PF=peso final

## Contenido de cenizas

1. Pesar muestra seca
2. Colocar la muestra en un crisol de porcelana dejándolo ligeramente abierto.
3. Introducir el crisol en la mufla y encenderla, programar a  $550^\circ\text{C}$  por 6-8 horas.
4. Colocar la muestra en un desecador para que se termine de enfriar.

Cálculos:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{(PF \times 100)}{PI}$$

Dónde: Donde: PI=Peso inicial PF=peso final

*“La luz de la ciencia avanza oscureciendo saberes”*

*Enrique Leff*