UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA DE JUVENILES DE PARGO CANANÉ (*Ocyurus chrysurus*), UTILIZANDO HARINA DE AVE Y PASTA DE CANOLA COMO SUSTITUTOS PARCIALES DE LA PROTEINA DE PESCADO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

(Biología Marina)

PRESENTA:

MIRNA LEANDRA ENRIQUEZ REYES

TUTORA PRINCIPAL:

Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés

Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR:

Dr. Luis Héctor Hernández Hernández, F.E.S. Iztacala UNAM

Dr. Gaspar Poot López, Universidad Autónoma de Yucatán

Dr. Alfonso Álvarez González, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Dra. Crisantema Hernández González, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Mazatlán

MÉXICO, YUCATÁN, JUNIO,2018

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA DE JUVENILES DE PARGO CANANÉ (*Ocyurus chrysurus*), UTILIZANDO HARINA DE AVE Y PASTA DE CANOLA COMO SUSTITUTOS PARCIALES DE LA PROTEINA DE PESCADO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

(BIOLOGÍA MARINA)

PRESENTA:

MIRNA LEANDRA ENRIQUEZ REYES

TUTOR(A) O TUTORES PRINCIPALES:

DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, F.E.S. IZTACALA UNAM

DR. GASPAR POOT LÓPEZ, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

DR. ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ, UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO

MÉXICO, YUCATÁN, JUNIO, 2018

Esta tesis se realizó con el apoyo de la beca otorgada (CVU:746599) por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y el apoyo económico de los proyectos del Programa de Nutrición de la UMDI-Sisal, Fac de Ciencias

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis Dra Martha Gabriela Gaxiola Cortés y al comité evaluador conformado por el Dr. Luis Héctor Hernández, Dr. Gaspar Poot, Dr. Alfonso Álvarez y Dra. Crisantema Hernández, por el apoyo, tiempo y recursos dedicados al planteamiento, desarrollo, interpretación y redacción de este trabajo.

En especial a la Dra. Claudia Durruty por su apoyo técnico y constante asesoramiento en todo el experimento, desde la reproducción peces, cría larvaria, cultivo con dietas experimentales, desmonte y hasta el análisis de los resultados.

Esta investigación se realizó con el apoyo técnico y/o material de un gran equipo de trabajo: M. en C. Adolfo Sánchez (cría larvaria); M. en C. Gabriela Palomino y Tec. Patricia Balam (mantenimiento de cepas y cultivo de alimento vivo); Dra. Ángeles Sánchez (Elaboración de alimento extruido, CIATEJ); Sra. Guadalupe Chan, Sra. Concepción Guadalupe Uc Burgos y Sr. Juan Moisés Cab Marín (alimentación y cuidado de organismos); Ing. Adriana Paredes, M. en C. Jaime Suárez, Dr. Juan Carlos Maldonado, M. en C. Martin Arenas, Ocean. Xurxo Barral, Biól. Sergio Cruz y M. V. Z. Fernando (biometrías, toma de muestras, captura de datos); M. en C. Karla Escalante, M. en C. Maribel Badillo, Biól. Omar Ángeles, M. en C. Alfredo Gallardo, M. en C. Claudia Caamal, M. en C. Ariadna Sánchez, M. en C. Maria del Carmen Galindo (Material, montaje de técnicas y análisis de muestras en laboratorio); M. en C. Eduardo Pacheco (Análisis estadístico).

RESUMEN

La derrama económica proveniente de la pesca del pargo canané (*Ocyurus chrysurus*) y su posible sobreexplotación en la Península de Yucatán, lo coloca como candidato potencial para la acuacultura. Sin embargo, una de sus limitantes es el alimento balanceado. El principal insumo de este alimento es la harina de pescado y como alternativa al encarecimiento y a la disminución de su calidad, se incorporaron pasta de canola y harina de ave como sustitutos parciales para determinar el requerimiento de proteína de juveniles de *O. chrysurus*. Se formularon cinco tratamientos con diferentes niveles de proteína (1 (43 %), 2 (48 %), 3 (53 %), 4 (58%) y 5 (63%)). Se distribuyeron 180 peces (peso inicial: 13.38±0.08 g) en 15 tinas de 100 L y fueron alimentados tres veces al día al 3% de su biomasa durante 60 días. Al finalizar el experimento se observaron diferencias significativas en la ganancia en peso, tasa de crecimiento específica y el factor de conversión del alimento, obteniendo mejores resultados en los tratamientos 3 (11.1 g, 1.01%, 2.14), 4 (12.7 g, 1.1%, 1.8) y 5 (15.5 g, 1.28%, 1.6). La actividad de enzimas digestivas mostró diferencias solo en las proteasas acidas aumentando con la proteína dietética. A pesar de que las dietas fueron isoenergéticas, se observó un incremento en la energía digestible conforme aumento la proteína en las dietas permitiendo una mayor cantidad de energía retenida, lo que parece estar relacionado con el crecimiento en los tratamientos 3, 4 y 5. De acuerdo con los resultados, el requerimiento de proteína se encuentra entre 53 y 63%, sin embargo, la proteína es considerada el nutriente más caro y con el fin de economizar, se concluye que el requerimiento se encuentra entre 53 y 58% de inclusión en la dieta cuando la proteína de pescado es sustituida por harina de ave y pasta de canola.

Palabras clave: peces marinos, pargo canané, requerimiento de proteína, enzimas digestivas, harina de ave, pasta de canola

ABSTRACT

The economic spill from the fishing of the Canané snapper (*Ocyurus chrysurus*) and its possible overexploitation in the Yucatan Peninsula, places it as a potential candidate for aquaculture. However, one of its limitations is aquafeed. The main supplies of this aquafeed is fishmeal and as an alternative to the increase in price and the decrease of its quality, canola paste and poultry meal were incorporated as partial substitutes to determine the protein requirement of juveniles of *O. chrysurus*. Five treatments with different protein levels were formulated (1 (43%), 2 (48%), 3 (53%), 4 (58%) and 5 (63%)). 180 fish (initial weight: 13.38 ± 0.08 g) were distributed in 15 tanks of 100 L and were fed three times a day at 3% of their biomass for 60 days. At the end of the experiment, significant differences were observed in weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio, obtaining better results in treatment 3 (11.1 g, 1.01%, 2.14), 4 (12.7 g, 1.1%, 1.8) and 5 (15.5 g, 1.28%, 1.6). The digestive enzymes activity showed differences only in the acid proteases increasing as the dietary protein increased. Although the diets were isoenergetic, an increase of digestible energy was observed as protein levels in the diets allowed higher values of retain energy, which seems to be related to a higher growth in treatments 3, 4 and 5. According to the results, the protein requirement is between 53 and 63% but the protein is considered as the most expensive nutrient and in order to economize it is concluded that the requirement is between 53 and 58% of inclusion in the diet when the fish protein is replaced by poultry meal and canola paste.

Key words: marine fish, yellowtail snapper, protein requirement, digestive enzymes, poultry meal, canola paste

INDICE

1. INTRODUCCIÓN 1
2. ANTECEDENTES 3
2.1 Requerimientos de proteína de peces marinos 3
2.2 Nutrición de lutjanidos 3
2.3 Descripción general de la especie 5
3. JUSTIFICACION 7
4. HIPOTESIS 7
5. OBJETIVOS 8
5.1 General 8
5.2 Particulares 8
6. MATERIAL Y MÉTODO 9
6.1 Lugar de los experimentos 9
6.2 Diseño de experimental 9
6.3 Origen y alimentación de los organismos 9
6.4 Elaboración de las dietas experimentales 11
6.5 Parámetros de crecimiento y eficiencia de los alimentos 12
6.6 Análisis químico-proximal 13
6.7 Índices biológicos corporales 13
6.8 Actividad enzimática 14
6.8.1 Preparación de los homogenizados 14
6.8.2 Proteasas ácidas 15
6.8.3 Proteasas alcalinas 15
6.8.4 Lipasas 15
6.8.5 α – amilasas 15
6.8.6 Calculo enzimático 16
6.9 Balance energético 17
6.9.1 Respirometría 18
6.9.2 Calorimetría 18
6.10 Análisis estadístico 19
7. RESULTADOS 20
7.1 Crecimiento 20
7.2 Composición químico proximal 22

7.3 Índices biológicos corporales 23
7.4 Actividad enzimática 24
7.5 Balance energético 25
8. DISCUSIÓN 27
9. CONLUSIONES 34
10. RECOMENDACIONES 35
11. BIBLIOGRAFIA 36

Índice de Tablas

Tabla 1.- Programa de alimentación para cría larvaria de pargo canané del Laboratorio de cría larvaria, UAY,Sisal, Yucatán. 10

Tabla 2.- Formulación de las dietas experimentales 12

Tabla 3.- Crecimiento de juveniles de pargo canané alimentados con diferentes niveles de proteína en la dieta. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas. 20

Tabla 4.- Análisis de covarianza del peso de *O. chrysurus* alimentado con diferentes niveles de inclusión de proteína en la dieta. Letras diferentes representan diferencias significativas. 21

Tabla 5.- Composición químico-proximal de los organismos en base húmeda. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas..... 22

Tabla 6.- Condición fisiológica de los organismos alimentados con diferentes niveles de proteína en la dieta. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas. 23

Tabla 7.- Actividad específica de las enzimas digestivas en U/mg de proteína soluble. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas. 24

Tabla 8.- Distribución de la energía dietética (%) en el cuerpo de juveniles de *O. chrysurus*. Las letras diferentes representan diferencias significativas. 26

Índice de Figuras

Figura 1.- Crecimiento de *Ocyurus chrysurus* alimentados con diferentes niveles de proteína durante 60 días. 21

Lista de Abreviaturas

S: Sobrevivencia

GP: Ganancia en peso

TCE: Tasa de crecimiento especifico

TEP: Tasa de eficiencia de la proteína

RP: Retención de la proteína

FCA: Factor de conversión del alimento

FC: Factor de condición

IVS: Índice Viscerosomático

IHS: Índice Hepatosomático

IGV: Índice de grasa visceral

EI: Energía ingerida

FE: Energía perdida por heces

DE: Energía digerible

RE: Energía retenida

HeE: Metabolismo basal

HiE: Incremento de calor post prandial

(ZE + UE): Energía perdida por orina y branquias

LWG: Ganancia de peso vivo

DM: % de materia seca del pez

GE: Energía corporal del pez

1. INTRODUCCIÓN

De las 32 entidades federativas que conforman la República Mexicana, 17 tienen apertura al mar y representan el 56% del territorio nacional, la longitud de costa del país, sin contar la correspondiente a las islas, es de 11,122 Km. En el litoral del Pacífico y Golfo de California se tienen 7,828 km y 3,294 en el Golfo de México y Mar Caribe (INEGI, 2012). Los litorales nacionales se aprovechan principalmente para la pesca, proporcionando seguridad alimentaria, fuente de empleo, recreación, comercio y bienestar económico para el país. Durante el 2014, la pesca de captura fue de 1,396,205 toneladas, 3.2% más que el promedio de 2003 a 2012 (FAO, 2016).

En el Golfo de México se extraen un gran número de especies, entre ellas, pulpo, mero, peto, guachinango y pargo cuya explotación coloca a Yucatán en el noveno lugar como productor nacional y en séptimo lugar en cuanto a valor de la producción (SAGARPA, 2014; CONAPESCA, 2013). Sin embargo, el volumen de captura de mero y pulpo en esta región ha disminuido en los últimos años y se espera que para el 2025 disminuya aún más, dejando un panorama poco prometedor para las especies restantes (Munguía, G. A., 2010).

Actualmente, debido a la importancia económica y a la posible sobreexplotación, el pargo canané (*Ocyurus chrysurus*) ha sido seleccionado para realizar investigaciones sobre su cultivo (SAGARPA, 2012). Los pargos pertenecen a la familia Lutjanidae y han sido objeto de múltiples estudios para el conocimiento de su biología, reproducción, distribución por etapas de crecimiento, alimentación en vida silvestre, así como su tolerancia al cautiverio (Cantarell, 1982; Mexicano-Cintora, 1986; Harrigan *et al*., 1989; Riley *et a*l., 1995; Mexicano-Cintora, 1999; Cocheret *et al*., 2002; Botero y Ospina, 2002; Nagelkerken y Van der Velde, 2004; Rincón-Sandoval *et al*., 2010) sentando las bases para el cultivo bajo condiciones controladas.

Un factor determinante en la acuacultura es el alimento balanceado, su calidad influye en el crecimiento, motilidad, salud, reproducción y bienestar de los organismos (NRC, 2011). Los alimentos balanceados son preparados con base en los requerimientos nutricionales de cada especie y aun cuando la dieta se formula para satisfacerlos, no siempre contiene los niveles de nutrientes calculados una vez preparado, debido a

que el proceso utilizado en su elaboración puede alterar significativamente su valor nutricional (Olvera *et al*., 1993).

Los elevados requerimientos proteínicos de peces y camarones se atribuyen a sus hábitos alimenticios carnívoros/omnívoros (Cowey *et al.*, 1975). El nivel óptimo, es influenciado por el balance proteína-energía, la composición de aminoácidos, la digestibilidad y la cantidad de otros nutrientes no proteicos. El exceso de energía en la dieta puede limitar el consumo de alimento y por lo tanto disminuir la ingesta (Wilson, 2002).

Las proteínas están consideradas como el constituyente más importante de cualquier célula viviente y representan el grupo químico más abundante en el cuerpo de los animales, con excepción del agua; en promedio, el cadáver del pez contiene 75% de agua, 16% de proteína, 6% de lípidos y 3% de cenizas. Pueden servir como sustrato para la formación de lípidos y carbohidratos en el tejido además de hormonas, enzimas y una variedad muy amplia de otras sustancias biológicamente importantes, tales como los anticuerpos y hemoglobina (Tacon, 1989).

2. ANTECEDENTES

2.1 Requerimientos de proteína de peces marinos

Los requerimientos de proteína de varias especies de peces marinos con hábitos carnívoros se encuentran en un intervalo de 40 a 57 % de inclusión en la dieta. En 1994, Chen y Tsai, establecen un 47.8% para juveniles de Mero (*Epinephelus malabaricus*) mediante el modelo de broken-line; Ballestrazzi *et al*. (1994) realizaron un experimento donde alimentaron a juveniles de lubina (*Dicentrarchus labrax*) con tres niveles (44, 49 y 54%) de proteína cruda proveniente de harina de arenque y harina de arenque + gluten, concluyen que el mayor crecimiento en los organismos fue con la dieta con 44% de proteína sin importar la mezcla. Lee *et al.* (2000) encontraron que el nivel de proteína y energía óptimo para el crecimiento del falso halibut (*Paralychthys olivaceus)* es de 50% de proteína con 300 kcal/100g, no encontrando relación entre el nivel de energía y la tasa de eficiencia alimenticia. Lee *et al*. (2003) probaron diferentes niveles de proteína desde 29 a 57 % en juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus)* durante 45 días, encontrando que el nivel óptimo de proteína para el crecimiento es de 49.4% mediante el modelo de broken-line; Roo *et al*. (2005) realizaron experimentos con Jurel, registrando el mayor crecimiento cuando el cultivo es en jaulas y en aquellos organismos alimentados con 55% de proteína y 15% de lípidos; finalmente Arenas (2015), reporta un requerimiento proteico de 57% para el robalo blanco (*Centropomus undecimalis*), observando una actividad enzimática mayor en proteasas alcalinas y quimiotripsina.

2.2 Nutrición de lutjanidos

Los pargos (Familia Lutjanidae) forman un grupo de peces depredadores, de talla media y son comunes en aguas tropicales y calientes de la zona templada, con pocas excepciones su hábitat son las aguas protegidas. Se alimentan básicamente de crustáceos y de ictiofauna de tallas pequeñas (Cantarell, 1982). Mediante el análisis de isotopos estables se determinó que el pargo gris (*Lutjanus griseus*) se alimenta principalmente de camarones peneidos localizados en áreas de manglar y pastos marinos, representan del 35 al 100% de la fuente de nitrógeno y carbono (Harrigan *et al.*, 1989).

El pargo canané, *Ocyurus chrysurus*, tiene hábitos tróficos nocturnos, pero no es estricto (Cantarell, 1982), presenta una tasa de crecimiento acelerada la cual se asocia a sus hábitos como depredador activo (Mexicano-Cintora, 1986). En 1995, Riley *et al.* capturaron adultos y los mantuvieron durante un año hasta

que desovaron voluntariamente, los huevos fueron colectados y monitoreados durante 60 días logrando describir el desarrollo larvario del canané. Se ha comprobado que la alimentación de los reproductores influye en la sobrevivencia de las larvas en los primeros 16 días de vida, después de dos años de desoves semanales la cantidad y fertilidad de los huevos, así como la sobrevivencia de las larvas, disminuyen. Durante el periodo de crecimiento de los juveniles se mantuvieron con alimento comercial para robalo con 40 % de proteína y 9% de lípidos, logrando un crecimiento mayor que el de pargos silvestres en la misma etapa (Turano *et al*., 2000).

Una de las complicaciones de alimentar con un alimento que no está desarrollado para la especie en particular es la presencia de signos alguna enfermedad tal como el hígado graso encontrado en juveniles de pargo palmer (*Lutjanus analis*) al proporcionarles una dieta para trucha arco iris por un periodo de 118 días (Botero y Ospina, 2002).

En el 2006, García-Torcuato *et al*., evaluaron del crecimiento de *O. chrysurus* en jaulas flotantes con volumen de 1.5 m^3 con densidades de 5, 10 y 15 organismos por jaula alimentados con sardina (*Harengula jaguana)* (60 % proteína, 21 % lípidos y 10 % de Carbohidratos, en promedio), el grupo con mejor crecimiento fue en el que se encontraban 10 organismos por jaula.

La proteína es el ingrediente más caro en un alimento balanceado, la harina de pescado es utilizada ampliamente en la acuacultura, pero cuanto más es la demanda mayor es el costo, además de ser una industria insostenible por lo que se han buscado fuentes de proteína de origen terrestre que la sustituya. Barreto (2016), evaluó el grado de hidrólisis de fuentes de proteína de origen terrestre (animal y vegetal) empleando la harina de pescado como grupo control. Utilizó extractos enzimáticos de estómago, ciegos pilóricos e intestino de pargo canané encontrando que la harina de pescado, harina de ave grado alimenticio y harina de ave super son fuentes de proteína fácilmente hidrolizables por el pargo, presentado disponibilidad de aminoácidos. En cuanto a digestibilidad *in vivo* reporta que, aunque la pasta de canola obtuvo el valor más alto, las harinas de ave tienen la mejor digestibilidad aparente de energía por ello sugiere que pueden ser un sustituto de la harina de pescado.

2.3 Descripción general de la especie

De acuerdo con Allen (1985).

Ocyurus chrysurus (Bloch, 1790)

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Familia: Lutjanidae

Género: *Ocyurus*

Especie:

Ocyurus chrysurus

Nombre común: Pargo canané, rabirrubia

Descripción

Cabeza relativamente pequeña, mandíbula inferior protráctil, parche de dientes vomerianos en forma de V; 21-22 branquiespinas en la rama inferior del primer arco. Aleta dorsal con 10 espinas y de 12-14 rayos; aleta anal con 3 espinas y 9 rayos (raramente 8); aleta pectoral con 15-16 rayos; aleta caudal con bifurcación muy marcada. Hileras de escamas en el dorso levantándose desde y hacia arriba de la línea lateral en forma oblicua.

Color: espalda y lados superiores de color azul a violeta con manchas amarillas dispersas, desiguales en tamaño; una prominente banda amarilla media lateral del hocico hasta la base de la aleta caudal, gradualmente más ancha en sentido posterior. Lados inferiores y vientre blanquecino con rayas estrechas de color rojizo y amarillo. Aletas dorsal y caudal de color amarillo; Aleta anal y aletas pélvicas blanquecinas.

Distribución: Oeste del océano Atlántico, extendiéndose desde Massachusetts hasta el sureste de Brasil. Comúnmente en las Bahamas, Sur de Florida y el Caribe.

Hábitat: Arrecife, Pradera de fanerógamas, aguas protegidas. Desde 10 hasta 70 m de profundidad. Usualmente cerca de del fondo, frecuentemente en agregaciones.

Condición sexual: Gonocórico

Nutrición: Carnívoro; zooplancton, bentos, peces, crustáceos, gasterópodos y cefalópodos.

Talla: hasta 70 cm

Esperanza de vida: 6-14 años

3. JUSTIFICACION

De acuerdo con los estudios mencionados anteriormente, la importante derrama económica proveniente de la pesca del pargo canané y su posible sobreexplotación, ésta especie se coloca como candidato potencial para la acuacultura. Una de sus limitantes es el alimento balanceado pues aún no se conoce cuáles son los requerimientos nutricionales de la especie, por lo tanto, si el alimento disponible en la industria los cubre o no, puede influir directamente en el estado de salud, tasa de crecimiento, así como en los costos de producción.

La harina de pescado ha sido utilizada para la elaboración de alimentos ricos en proteína y aceite de pescado, sin embargo, debido a su gran demanda y al incremento de su precio, se está elaborando a partir de subproductos de la pesca, lo que afecta en su composición y calidad (FAO, 2014). Otras fuentes de proteína disponibles para la elaboración de alimento balanceado en el estado de Yucatán son la pasta de canola y la harina de ave que, de acuerdo con Barreto (2016), son proteínas de origen terrestre que pueden ser asimiladas fácilmente por *O. chrysurus*. Es por ello que en este trabajo se propone incorporarlas como sustituto parcial de la harina de pescado en las dietas que se utilizarán para conocer los requerimientos de proteína del pargo canané.

4. HIPOTESIS

El requerimiento de proteína de *O. chrysurus* se encontrará en un intervalo de 40 a 63% de inclusión en la dieta. Cuando un valor esté cercano al requerimiento, la actividad enzimática aumentará y el balance energético mostrará una mayor energía canalizada al crecimiento.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar el nivel óptimo de proteína en juveniles del pargo canané para lograr un crecimiento máximo alimentando con dietas en las que se sustituyó parcialmente la proteína de pescado por una mezcla de harina de ave y pasta de canola.

5.2 Particulares

Evaluar el efecto de la proteína dietética en la sobrevivencia y crecimiento de juveniles de *O. chrysurus.*

Evaluar la actividad enzimática del pargo canané alimentado con diferentes niveles de proteína en la dieta.

Evaluar el efecto de la proteína dietética sobre el balance energético de los juveniles de *O. chrysurus* alimentados con las diferentes dietas.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Lugar de los experimentos

El experimento se realizó en el Iglú de nutrición dentro de las instalaciones de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI) de la Facultad de Ciencias campus Sisal, Yucatán, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

6.2 Diseño de experimental

Las pruebas consistieron en cinco tratamientos y tres replicas con una duración de 60 días, se desarrolló en un sistema de recirculación equipado con 15 tanques, cada uno con capacidad de 100 L, en cada tanque se colocaron 12 organismos de 13.38 ± 0.08 g cada uno. La temperatura se mantuvo constante, 28 ± 1°C.

6.3 Origen y alimentación de los organismos

Los peces que se utilizaron en este experimento se obtuvieron como resultado de los desoves logrados en el Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Ciencias en Sisal, Yucatán.

Los reproductores provienen del medio silvestre aclimatados durante 6 años al cautiverio. Como preparación antes del desove, se alimentaron por cuatro semanas con pellet húmedo provisto de 45 % proteína y 15 % lípidos. Posteriormente se agruparon cuatro machos y cuatro hembras a las cuales se les suministro una dosis de 0.14 ml/Kg de Gonadotropina coriónica de 5,000 UI mediante una inyección debajo de la aleta pectoral izquierda; los peces permanecieron en un tanque con capacidad de 10,000 L con flujo abierto equipado con una malla de 100 micras en el efluente para colectar los huevos. Al término de 32 horas comenzó el desove y finalizo 37 horas posteriores a la inyección. Durante este tiempo permanecieron en ayuno a una temperatura de 29 ± 1°C, 5.5 mg/L de oxígeno disuelto y a 36 UPS.

Los huevos fueron colectados con plumas de flamingo para facilitar el manejo y disminuir los daños; se contabilizaron 119 huevos/ml y se sembraron 300 ml en un tanque de fibra de vidrio de color negro con fondo blanco, con un volumen inicial de 3,000 L de agua clara a 37 UPS a una temperatura de 29 ± 1°C con aireación constante y sin flujo. Simultáneamente se separaron 500 huevos en 10 recipientes de 1 L para cuantificar el porcentaje de eclosión; 32 horas después de la siembra se registró 33% de eclosión

Durante la cría larvaria (35 días) los peces se alimentaron con rotíferos (*Brachionus plicatilis*), nauplios y metanauplios de Artemia, la primera alimentación exógena fue con un alimento microparticulado con 50% de proteína (marca Otohime); se realizaron conteos cada cuatro horas para ajustar la concentración de alimento indicada en el programa (Tabla 1), desde 8 am hasta 8 pm. Al finalizar la cría larvaria los peces fueron alimentaron con un pellet comercial para trucha de 2 mm de diámetro hasta los 98 días, posterior a eso se elaboró una dieta de mantenimiento en el Laboratorio de Nutrición con 40% de proteína y 8% de lípidos con un tamaño de 2 mm de diámetro, los peces fueron alimentados a saciedad. Al iniciar el experimento se realizaron biometrías para obtener el peso inicial y ajustar la porción de alimento balanceado (Tabla 2) tomando como referencia el 3% de su biomasa, se racionó en tres partes a las 9:00, 13:00 y 18:00 horas, la cantidad se ajustó cada 15 días al finalizar la biometría.

Tabla 1.- Programa de alimentación para cría larvaria de pargo canané del Laboratorio de cría larvaria, UAY,Sisal, Yucatán.

Día de cultivo	***Nannochloropsis sp***	***Brachionus plicatilis***	**Nauplio de Artemia**	**Metanauplios de Artemia**	**Alimento balanceado Otohime**
	cel/ml	org/ml	org/ml	org/ml	tamaño (µm)
0					
1	400,000	10			
2	400,000	10			
3	400,000	10			
4	400,000	10			
5	400,000	10			
6	400,000	10			
7	400,000	10			
8	400,000	10			
9	400,000	10			
10	400,000	10			
11	400,000	10			
12	400,000	10			65-100
13	400,000	10	0.5		65-100
14	400,000	10	1		65-100
15	400,000	10	1		65-100
16	400,000	10	1		250
17	400,000	10	1	2	250
18				3	250

19				3	250
20				3	250-360
21				5	250-360
22				5	360-650
23				5	360-650
24				3	360-650
25				3	360-650
26				3	360-650
27				3	360-650
28				2	360-650
29				2	360-650
30				1.5	360-840
31				1.5	580-840
32				1	580-840
33				1	580-840
34				0.5	580-840
35				0.5	580-1000

6.4 Elaboración de las dietas experimentales

Se formularon cinco dietas con distintos porcentajes de proteína cruda, lípidos y carbohidratos (Tabla 2). La elaboración de las dietas se llevó a cabo en el CIATEJ del Parque Científico en Sierra Papacal, Yucatán. Los ingredientes secos se tamizaron con una malla de 300 µm de apertura, se mezclaron en un equipo Blazer-Modelo SSD-20ª durante 30 minutos hasta homogenizar por completo los insumos incorporándolos en orden de mayor a menor porcentaje de inclusión en la dieta, posteriormente se agregaron los ingredientes líquidos. Cuando se obtuvo una masa uniforme se retiró de la mezcladora y se pasó por un extrusor (THE BONNOT CO. Modelo 2EXTWPKR) utilizando un cedazo con tamaño de poro de 4mm. Para eliminar la humedad el alimento se colocó en un secador (marca JERSA) a 60° C durante 4 horas, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, el alimento se empaquetó en bolsas de plástico cerradas al vacío, se transportaron al laboratorio de nutrición de la UMDI- Sisal y se almacenaron en un congelador a -20°C hasta su uso.

Tabla 2.- Formulación de las dietas experimentales

Ingrediente g/100g	1	2	3	4	5
Harina de pescado Menhaden	28.2	32.3	36.3	40.3	44.4
Harina de Ave	12.7	14.5	16.4	18.2	20.0
Pasta de canola	10.3	11.8	13.2	14.7	16.2
Concentrado de proteína soluble de pescado	6.1	7.0	7.9	8.8	9.6
Aceite de hígado de bacalao	4.9	4.1	3.4	2.7	2.0
Almidón de maíz nativo	31.7	24.3	16.8	9.3	1.9
Rovimix para peces tropicales	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Grenetina	6	6	6	6	6
TOTAL (g)	100	100	100	100	100
Análisis proximal en base seca g/100g					
Proteína	42.7	47.1	53.2	58.2	63.5
Lípidos	7.4	7.4	7.6	8.1	7.7
Extracto Libre de Nitrógeno	40.8	35.4	27.4	20.5	14.8
Cenizas	8.8	9.9	11.7	13.1	13.8
Humedad	6.9	6.4	3.9	3	4.7
Energía kJ g^{-1}	20.3	21.4	20.6	21.3	21.1

6.5 Parámetros de crecimiento y eficiencia de los alimentos

Después de 60 días de experimento se calcularon los siguientes parámetros:

Sobrevivencia (S) = (nº organismos finales / nº organismos iníciales) x 100

Ganancia en Peso (GP) = peso promedio final (g) – peso promedio inicial (g)

Tasa de crecimiento especifica (TCE) = (ln peso final – ln peso inicial) /días) × 100

Tasa de eficiencia de la proteína (TEP) = GP /proteína consumida (g)

Retención de la Proteína (RP) = (contenido de proteína (g) del pez final-contenido de proteína (g) del pez al inicio) / proteína del alimento seco (g)

Factor de conversión del alimento (FCA) = alimento consumido (peso seco) / peso ganado (peso húmedo)

6.6 Análisis químico-proximal

El contenido de proteína en el alimento balanceado, así como en los peces se cuantifico con el método de Kjeldahl utilizando el equipo de la marca FOSS (Persson, 2008).

El contenido de lípidos en la dieta y en los peces se cuantificó mediante la técnica de Bligh y Dyer (1959).

La cantidad de humedad y cenizas se determinó con las técnicas descritas por la AOAC (1980).

6.7 Índices biológicos corporales

Al finalizar el experimento de alimentación, los peces permanecieron 48 hrs en ayuno para asegurar el vaciado del tracto digestivo. Se sacrificaron 15 peces por tratamiento mediante sobredosis de aceite de clavo (0.3 ml/L de agua) y exanguinación en la vena caudal. La sangre se colectó con una jeringa para insulina previamente enfriada y humedecida con EDTA al 10% para evitar la coagulación y permitir la toma.

Posteriormente se pesó el cuerpo completo de cada pez, se disecaron para extraer y pesar el tracto digestivo (estomago, ciegos pilóricos e intestino), hígado y grasa visceral.

Para cuantificar el contenido de glucógeno en el hígado, se modificó la técnica de Carrol *et al.* (1956); se pesaron 20 mg de tejido, se homogenizaron con 200µl de TCA al 5%, se centrifugaron a 7,000 rpm durante 6 minutos, se tomaron 100 µl del sobrenadante (extracto) y se colocaron en un tubo eppendorf con 500µl de etanol al 95%, se homogenizó con vortex y se colocó en incubación a 37°C por 3 horas. El extracto nuevamente se centrifugo a 7000 rpm por 15 minutos; se desechó el sobrenadante conservando solo la pastilla, se agregaron 20µl de agua destilada hirviendo y 200µl de fenol al 5%, se preparó un blanco (20 µl agua + 200 µl fenol) y un estándar (10 µl de glucosa [1 mg/ml] + 200 µl fenol). Se agregó 1 ml de ácido sulfúrico concentrado a todas las muestras incluyendo el blanco y el estándar, se homogenizó con vortex. Al obtener una coloración café fue necesario llevar a cabo una dilución (fdx = 20) con 40 µl de muestra + 760 µl de ácido sulfúrico concentrado; en la microplaca se colocaron 200 µl por muestra y por triplicado. La lectura se llevó a cabo en un espectrofotómetro a 490 nm.

Los índices que se calcularon fueron los siguientes:

Factor de condición (FC) = (peso corporal / longitud total^3)*100

Glucógeno (mg/g hígado) = $\frac{\text{ABSm}-\text{ABSb}}{\text{ABSe}} \times [1\text{mg/ml}] \times \frac{\text{(ml) Extracto}}{\text{(g) tejido}} \times 0.9 \times \text{Fdx}$

Donde ABSm: Absorbancia de la muestra; ABSb: Absorbancia del blanco; ABSe: Absorbancia del estándar

Índice Viscerosomático (IVS)= (peso de las vísceras/peso corporal) x 100

Índice Hepatosomático (IHS)= (peso del hígado/peso corporal) x 100

Índice de Grasa Visceral (IGV)= (peso de la grasa mesentérica/peso corporal) x 100

Hematocrito= (longitud del volumen del paquete celular/longitud total del volumen sanguíneo) x 100

6.8 Actividad enzimática

Se formaron tres grupos de cinco órganos del mismo tipo por tratamiento (3 x 5 x 5), fueron triturados y congelados en nitrógeno líquido, se almacenaron a - 80°C hasta su procesamiento.

6.8.1 Preparación de los homogenizados

Los homogenizados se prepararon de acuerdo al órgano; el estómago en una solución buffer de glicina-HCl 0.1 M a pH 2, en una relación 5:1 (5 ml de buffer por gramo de tejido); para intestino y ciegos pilóricos se utilizó una solución buffer de Tris- HCl 30 mM + $CaCl_2$ 12.5 mM pH 7.5, en una relación 2:1. Una vez homogenizados los tejidos en sus respectivas soluciones buffer, se centrifugaron a 12,000 rpm durante 20 minutos a 4ºC, posteriormente se recuperó el sobrenadante (extracto multienzimáticos) y se almacenó a - 80 ºC.

Para determinar la actividad específica de cada enzima se utilizaron las siguientes técnicas:

6.8.2 Proteasas ácidas

Para determinar la actividad de esta enzima se empleó la técnica de Anson (1938), con las siguientes modificaciones: a 1 ml de hemoglobina 1% en tampón glicina-HCl 0.1 M a pH 2, se le añadieron 5 µl del extracto multienzimático y se incubaron durante 5 minutos a 37°C. Para detener la reacción se le adicionaron 0.5 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 20%. Después se dejó reposar la mezcla de reacción por 15 minutos a 4 ºC, posteriormente se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 minutos y al finalizar se retiró el sobrenadante para ser medido. La actividad se definió como 1 µg de tirosina hidrolizada por minuto, utilizando como coeficiente de extinción molar 0.0008 a 280 nm.

6.8.3 Proteasas alcalinas

Se utilizó el método de Kunitz (1947), modificado por Walter (1984), usando como sustrato caseína al 1% en tampón 100 mM Tris-HCl + 10 mM $CaCl_2$ a pH 9. Se agregó 1 ml del buffer y 10 µl de extracto enzimático, se incubó por 10 minutos a 37 °C, posteriormente la reacción se detuvo con 0.5 ml de TCA al 20%. Después se dejó reposar la mezcla de reacción por 15 minutos a 4 ºC, posteriormente se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 minutos y al finalizar se retiró el sobrenadante para ser medido. La actividad se definió como 1 µg de tirosina hidrolizada por minuto, utilizando como coeficiente de extinción molar 0.0008 a 280 nm.

6.8.4 Lipasas

La actividad de esta enzima se determinó con el método de Gjellesvik *et al*. (1992) con las siguientes modificaciones, se utilizó como sustrato 4-nitrofenil octanoato a una concentración de 100 mM en etanol en buffer Tris 0.5 M pH 7.4 con taurocolato de sodio 6 mM. La reacción inició con 10 µl del extracto enzimático y 200 µl del sustrato, posteriormente se midió la absorbancia a 400 nm por 15 minutos en intervalos de un minuto en un espectrofotómetro de microplaca marca Bio-Tek® modelo Synergy HT utilizando un coeficiente de extinción molar 16,300.

6.8.5 α – amilasas

La actividad de esta enzima se determinó por la técnica de Somoyi-Nelson descrito por Robyt y Whelan (1968), utilizando como sustrato almidón al 2% en solución fosfato de sodio y citrato de sodio 100 mM + NaCl 50 mM pH 7.5. La reacción inició agregando 0.125 ml de almidón soluble 1 %, 0.125 ml de tampón 0.1 M citrato-fosfato pH 7.5 y 10 µl de extracto enzimático, después se incubó por 30 minutos a 37°C.

La actividad se definió como un 1 µg de maltosa hidrolizada liberada por minuto, utilizando como coeficiente de extinción molar 0.0034 a 540 nm.

6.8.6 Calculo enzimático

Mediante la técnica de Bradford (1976) se cuantificó la cantidad de proteína de cada extracto multienzimático, ajustando los volúmenes a microplaca utilizando reactivos de la marca Bio-Rad®. El ajuste consistió en diluir cada extracto multienzimático hasta que se distribuyera en la curva patrón: estómagos factor de dilución (fdx) 54; ciegos pilóricos fdx 150; intestino fdx 159. Se colocaron 10 µl de extracto diluido y 200 µl de reactivo de Bradford, se dejó reposar por 5 minutos y posteriormente se midió a 590 nm en un espectrofotómetro de microplaca.

Para determinar la actividad enzimática se utilizaron las siguientes ecuaciones:

Ecuación 1. Calculo de la actividad en unidades por ml.

$$Unidades/ml = \frac{\Delta abs\ x\ vol.\ final\ reacción(\mathrm{ml})}{CEM\ x\ tiempo(min)\ x\ vol.\ extracto\ (ml)}$$

Donde:

Δ abs = incremento de absorbancia a una determinada longitud de onda

Volumen final = volumen final de la reacción (ml)

CEM = Coeficiente de extinción molar del producto obtenido calculado de la recta de regresión (ml x mg-1 x cm-1)

Tiempo= tiempo de incubación de la reacción catalizada (min)

Vol. Extracto= volumen de extracto multienzimático (ml)

Ecuación 2. Cálculo de la actividad en unidades por mg de proteína soluble

$$Unidades/(mg\ de\ proteina\ soluble) = \frac{unidades/ml}{mg\ de\ proteína\ soluble/ml}$$

6.9 Balance energético

Para el balance energético se utilizó el modelo propuesto por Cho y Bureau (1998):

$$EI = FE + DE$$

$$DE = RE + HeE + HiE + (ZE+UE)$$

$$RE = LWG \times DM \times GE$$

$$ZE + UE = (RE + HeE + HiE) \times 0.09$$

Donde:

EI = Energía ingerida = alimento consumido por pez por día x energía del alimento

FE= Energía perdida por heces

DE = Energía digestible

RE = Energía recuperada (acumulada en el crecimiento)

HeE = Metabolismo basal

HiE = Incremento de calor post prandial

(ZE + UE) = Energía perdida por orina y branquias

LWG = Ganancia de peso vivo = GP

DM = % de materia seca del pez

GE = Energía corporal del pez

Para obtener los valores de: HeE y HiE se realizó la prueba de respirometría; EI y RE se realizó calorimetría de peces y alimento.

6.9.1 Respirometría

Posterior al experimento de alimentación, ocho peces de cada tratamiento permanecieron en ayuno de 24 horas previo a entrar al sistema de recirculación equipado con 9 cámaras respirométricas con capacidad de 1 L y 10 sensores de fibra óptica que registran la concentración de oxígeno: uno instalado en el flujo de entrada y nueve correspondientes al flujo de salida de cada una de las cámaras, la novena cámara se estableció como control. Los peces permanecieron 12 horas en ayuno dentro de las cámaras y después se les alimentó (0.15 g de alimento balanceado) y monitoreo por ocho horas más.

La determinación del consumo de oxigeno se realizó por medio de las diferencias en las concentraciones de oxígeno en el agua de entrada y salida de las cámaras, conociendo la velocidad del flujo a una temperatura constante (28°C).

$$\mathbf{VO_2 = \{([O_2]_{entrada} - [O_2]_{salida})*F\} - \{([O_2]_{entrada}-[O_2]_{salida})_{control}*F_{control}\}}$$

Donde **VO_2** es el consumo de oxígeno expresado en mg de O_2; $[O_2]_{entrada}$ es la concentración en mg L^{-1} de O_2 en el agua que entra a la cámara respirométrica, $[O_2]_{salida}$ es la concentración en mg L^{-1} de O_2 en el agua que sale de la cámara respirométrica, F es la velocidad o flujo que pasa a través de la cámara respirométrica expresada en litros por hora. (Rosas, 2003).

Para la conversión a energía se utilizó como coeficiente oxycalorífico, 13.6 KJ por cada gramo de oxígeno consumido.

6.9.2 Calorimetría

Se sacrificaron ocho peces antes de empezar el experimento y después ocho peces de cada tratamiento al finalizar, se secaron en un horno a 60°C por 7 días, se trituraron con un molino para café y se obtuvieron harinas a las que se les determinó la cantidad de energía mediante una bomba calorimétrica semi automática de la marca Parr (mod. 6725). Para el alimento experimental se utilizó el mismo equipo.

6.10 Análisis estadístico

Se transformaron a arcoseno aquellos parámetros expresados en porcentajes para detectar diferencias significativas en los factores y la posible interacción entre los mismos. Posteriormente se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk), homogeneidad de varianza (Bartlett), análisis de covarianza (ANCOVA) para evaluar el crecimiento utilizando como covariable el tiempo, Análisis de varianza de una vía (ANDEVA) para evaluar las respuestas de zootecnia y enzimas digestivas, para ponderar las diferencias significativas se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey. Para los resultados de balance energético se utilizó la prueba de Kruskal Wallis. En todos los casos se consideró un nivel de confianza del 95%.

7. RESULTADOS

7.1 Crecimiento

En la Tabla 3 se observa que la sobrevivencia no fue afectada por los diferentes niveles de proteína en la dieta, conservando más del 92% de los organismos. De igual manera, la TEP y la RP no presenta diferencias significativas entre los tratamientos.

Los organismos del tratamiento 5 incrementaron su peso (GP) a una tasa (TCE) de 1.28 % siendo estadísticamente diferente a los otros tratamientos, así mismo, el factor de conversión del alimento (FCA) muestra diferencias significativas resultando más eficiente cuanto mayor es la inclusión de proteína.

Tabla 3.- Crecimiento de juveniles de pargo canané alimentados con diferentes niveles de proteína en la dieta. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas.

Nivel de Proteína	1 (43%)	2 (48%)	3 (53%)	4 (58%)	5 (63%)
Sobrevivencia (%)	92 ± 4.81^{a}	100^{a}	97 ± 2.78^{a}	97 ± 2.78^{a}	100^{a}
Peso inicial	13.4±0.1^{a}	13.3±0.06^{a}	13.3±0.03^{a}	13.3±0.1^{a}	13.3±0.1^{a}
Peso Final	22.2±1.1^{b}	24.1±1.6^{b}	24.4±0.9^{ab}	26.1±2.2^{ab}	28.9±2.2^{a}
GP (g)	8.8±0.6^{b}	10.8±0.9^{b}	11.1±0.58^{ab}	12.7±1.3^{ab}	15.59±1.2^{a}
TCE (%)	0.84 ± 0.04^{b}	0.99 ± 0.06^{ab}	1.01 ± 0.04^{ab}	1.11 ± 0.09^{ab}	1.28 ± 0.07^{a}
TEP	0.92 ± 0.07^{a}	0.99 ± 0.06^{a}	0.88 ± 0.04^{a}	0.92 ± 0.06^{a}	0.97 ± 0.04^{a}
RP	0.16±0.01^{a}	0.16±0.01^{a}	0.18±0.03^{a}	0.18±0.01^{a}	0.24±0.02^{a}
FCA	2.58 ± 0.18^{a}	2.17 ± 0.13^{ab}	2.14 ± 0.11^{ab}	1.88 ± 0.12^{b}	1.63 ± 0.07^{b}

El análisis de covarianza (Tabla 4) muestra que la condición inicial de los peces en todos los tratamientos era similar de acuerdo con los valores de la ordenada al origen (b). El tratamiento con la mayor pendiente y por lo tanto el mayor crecimiento es el 5; en la Figura 1 se observa que conforme avanza el tiempo las pendientes se separan, al día 30 se nota un acomodo de menor a mayor que corresponde con el nivel de proteína en la dieta, esta tendencia continua hasta el día 60 donde se observan diferencias significativas entre los tratamientos.

Figura 1.- Crecimiento de *O. chrysurus* alimentados con diferentes niveles de proteína durante 60 días.

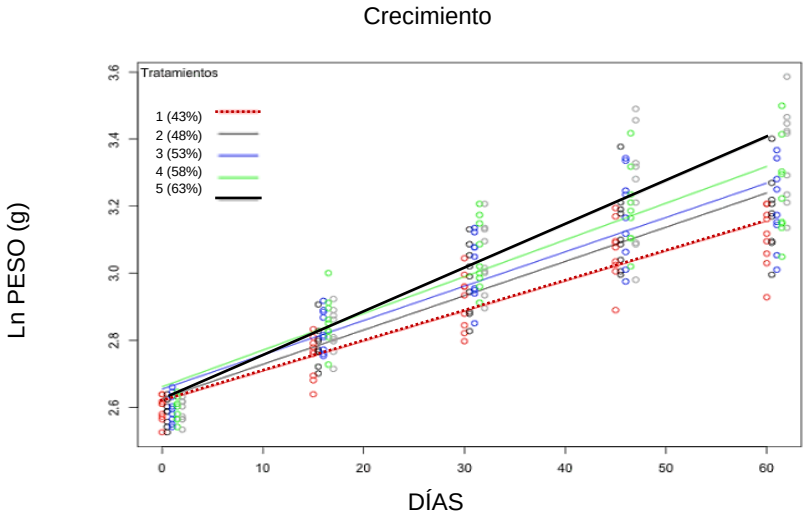

Tabla 4.- Análisis de covarianza del peso de *O. chrysurus* alimentado con diferentes niveles de inclusión de proteína en la dieta. Letras diferentes representan diferencias significativas.

Nivel de proteína	**1 (43%)**	**2 (48%)**	**3 (53%)**	**4 (58%)**	**5 (63%)**
Ordenada al origen (b)	2.61	2.62	2.65	2.66	2.62
Probabilidad	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
Pendiente (m)	0.0089[a]	0.0102[ab]	0.0102[bc]	0.0110[bc]	0.0130[c]

7.2 Composición químico proximal

En la tabla 5 se encuentran los resultados del análisis químico proximal de los organismos al inicio y al final del experimento. Los valores en condición inicial no se evaluaron estadísticamente, pero se conservan como referencia. En los peces alimentados con las diferentes dietas se encontró que la cantidad de proteína es mayor en el tratamiento 5 y significativamente menor en el 1; en cuanto a los lípidos los organismos con mayor acumulación son los del tratamiento 3 y los de menor son nuevamente los del 1, caso contrario en los valores de cenizas, donde los del tratamiento 1 presentaron el mayor valor y el tratamiento 3 el menor. La cantidad de humedad no presentó diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 5.- Composición químico-proximal de los organismos en base húmeda. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas.

		Nivel de proteína				
g/100	**Condición inicial**	**1 (43%)**	**2 (48%)**	**3 (53%)**	**4 (58%)**	**5 (63%)**
Proteína	21.56±0.05	22.13±0.01^{c}	22.66±0.06^{b}	22.89±0.10^{b}	22.65±0.2^{bc}	23.50±0.08^{a}
Lípidos	3.06±0.03	4.00±0.10^{c}	4.64±0.08^{b}	5.49±0.06^{a}	4.45±0.16^{bc}	4.79±0.08^{b}
Cenizas	5.21±0.02	6.33±0.04^{a}	5.83±0.04^{b}	5.09±0.11^{c}	5.83±0.14^{b}	5.58±0.19^{b}
Humedad	72.25±0.12	69.75±1.59^{a}	69.15±1.04^{a}	68.24±1.69^{a}	69.19±0.92^{a}	68.80±0.90^{a}

7.3 Índices biológicos corporales

La condición fisiológica de los organismos se muestra en la Tabla 6 donde el FC no tiene diferencias significativas entre los tratamientos, de igual manera para el IVS y el hematocrito.

La proporción del hígado (IHS) respecto al cuerpo es estadísticamente diferente entre el tratamiento 1 y el 5 con valores de 1.72 y 1.35 respectivamente. Los peces con mayor acumulación de grasa visceral (IGV) fueron los del tratamiento 5 sin diferencias significativas con el 2, 3 y 4 pero si con los del tratamiento 1. Se observa que cuanto mayor es el nivel de proteína en la dieta menor es el tamaño del hígado, pero mayor la acumulación de grasa visceral.

Tabla 6.- Condición fisiológica de los organismos alimentados con diferentes niveles de proteína en la dieta. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas.

Nivel de Proteína	**1 (43%)**	**2 (48%)**	**3 (53%)**	**4 (58%)**	**5 (63%)**
Factor de condición (FC)	1.17±0.004 [a]	1.19±0.009 [a]	1.16±0.016[a]	1.23±0.015[a]	1.22±0.023[a]
Glucógeno	427±31 [a]	279±25 [b]	196±35[b]	169±24[b]	163±20[b]
Índice Viscerosomático (IVS)	5.13± 0.26[a]	5.27±0.16 [a]	4.90±0.06 [a]	5.74±0.26 [a]	5.35±0.03 [a]
Índice Hepatosomático (IHS)	1.72±0.04[a]	1.70±0.05[ab]	1.44±0.14[ab]	1.59±0.01[ab]	1.35±0.06[b]
Índice de Grasa Visceral (IGV)	1.59±0.20[b]	2.01±0.04[ab]	1.95±0.15[ab]	2.66±0.35[a]	2.53±0.05[a]
Hematocrito	36.10±5.4 [a]	46.86±1.9 [a]	44.47±0.4 [a]	37.39±3.2 [a]	49.38±3.4 [a]

7.4 Actividad enzimática

De acuerdo con la Tabla 7, la actividad de proteasas, lipasas y alfa amilasas tanto en ciegos como en intestinos no mostro diferencias significativas entre los tratamientos, aunque se puede observar una mayor actividad en ciegos que en intestino. En cuanto a las proteasas ácidas del estómago se puede apreciar que los organismos del tratamiento 5 tienen una mayor actividad que aquellos con menor inclusión de proteína en la dieta.

Tabla 7.- Actividad específica de las enzimas digestivas en U/mg de proteína soluble. Los datos son el promedio de tres repeticiones ± el error estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas.

Nivel de proteína	**Proteasas**			**Lipasas (mU/mg)**		**α-Amilasa**	
	Estómago	**Ciegos**	**Intestino**	**Ciegos**	**Intestino**	**Ciegos**	**Intestino**
1 (43%)	4,524±178^{ab}	38±12^{a}	42±14^{a}	3.5±1.42^{a}	8.93×10^{-4} $\pm2.5\times10^{-4}$ ^{a}	182.33±66^{a}	66.14± 3.7^{a}
2 (48%)	3,715±410^{b}	22±3^{a}	24±2^{a}	2.5±0.24^{a}	4.4×10^{-4} $\pm3.1\times10^{-4}$ ^{a}	111.05±18^{a}	80.10±10.1^{a}
3 (53%)	6,320±1054^{ab}	63±34^{a}	29±5^{a}	3.2±0.93^{a}	10×10^{-4} $\pm4.8\times10^{-4}$ ^{a}	198.56±83^{a}	74.81± 22^{a}
4 (58%)	6,139±625^{ab}	96±14^{a}	30±4^{a}	7.1±2.33^{a}	5.92×10^{-4} $\pm0.3\times10^{-4}$ ^{a}	346.80±34^{a}	76.81± 7.7^{a}
5 (63%)	7,112±827^{a}	91±10^{a}	36±8^{a}	7.2±0.22^{a}	6.7×10^{-4} $\pm1.5\times10^{-4}$ ^{a}	243.51±20^{a}	61.90±14.4^{a}

7.5 Balance energético

El análisis de los datos indica que la cantidad de proteína en la dieta influye sobre el balance energético de los organismos como se observa en la tabla 8; del 100% de energía ingerida (EI), los peces del tratamiento 1 perdían el 64% en forma de heces (EF) obteniendo sólo el 35% de energía digerible (DE), inverso a los peces del tratamiento 5 donde la DE es mayor a lo que se excretaron a través de las heces, en los tratamientos intermedios no se observan diferencias.

La retención de energía (RE) en los tratamientos 1 y 2 presentan valores similares (25.1 y 24.5 %) y difieren estadísticamente de los tratamientos 4 y 5 los cuales son mayores (41.7 y 51.3%), el tratamiento 3 es similar a los extremos.

La energía utilizada en el metabolismo basal (HeE) de los peces fue menor al 11%, observando una tendencia a disminuir conforme aumenta el nivel de proteína. Cuando los organismos fueron alimentados, el incremento de calor aparente (HiE) se mantuvo de manera equitativa entre ellos.

La pérdida de energía por orina y branquias (ZE+UE) tiende a incrementar con el aumento de proteína en la dieta, las diferencias significativas se encuentran entre el tratamiento 1 y el 5.

Tabla 8.- Distribución de la energía dietética (%) en el cuerpo de juveniles de *O. chrysurus.* Las letras diferentes representan diferencias significativas.

Nivel de proteína	**EI**	**EF**	**DE**	**RE**	**HeE**	**HiE**	**(ZE+UE)**
1 (43%)	100	64.5±8.9[a]	35.5±8.9[b]	25.1±7.0[b]	5.2±3.9[b]	2.2±1.9	2.9±0.7[b]
2 (48%)	100	56.0±6.7[ab]	44.0±6.7[ab]	24.5±7.4[b]	11.2±3.9[a]	4.7±5.7	3.6±0.6[ab]
3 (53%)	100	41.8±20.8[ab]	58.2±20.8[ab]	40.7±22.9[ab]	9.0±4.9[ab]	3.7±3.7	4.8±1.7[ab]
4 (58%)	100	47.5±13.6[ab]	52.5±13.6[ab]	41.7±12.1[a]	4.0±3.1[b]	2.5±1.8	4.3±1.1[ab]
5 (63%)	100	36.7±19.2[b]	63.3±19.2[a]	51.3±16.0[a]	3.4±2.4[b]	3.5±2.4	5.2±1.6[a]

EI: Energía ingerida; **FE**: Energía perdida por heces; **DE**: Energía digestible; **RE**: Energía retenida; **HeE**: Metabolismo basal; **HiE**: Incremento de calor aparente; **(ZE + UE)**: Energía perdida por orina y branquias

8. DISCUSIÓN

CRECIMIENTO

Un procedimiento para conocer el requerimiento de proteína del pargo canané es evaluando el crecimiento, en este estudio se encontró en los valores de la ganancia en peso (GP) y la pendiente el mayor crecimiento en los peces alimentados con los niveles de proteína 3, 4 y 5 donde también se registró el menor factor de conversión alimenticia (FCA), esta tendencia al incremento de peso por la cantidad de proteína en la dieta se ha registrado en Lutjanus guttatus (Abdo de la Parra *et al*., 2010).

Los valores de la tasa de crecimiento especifico (TCE) en los tratamientos 4 y 5, se encuentran en el intervalo de 1.05 a 1.7 reportado para *Lutjanus guttatus* cuando ha sido alimentado con dietas en las que sustituyó parcialmente la harina de pescado (Silva Carrillo *et al*., 2012; Sánchez, 2013; Olmeda, 2014;); sin embargo, los valores de los tratamientos 1, 2 y 3 son los más bajos reportados para un lutjanido en cultivo: 1.06 en *L. analis* (Botero y Ospina, 2002), de 3.47 a 4.29 en *L. guttatus* (Abdo de la Parra *et al.*, 2010),1.8 a 2.9 en *L. argentimaculatus* (Abbas, 2011; Abbas y Siddiqui, 2013); aunque no se tiene registro para el pargo canané, se deduce que la cantidad de proteína en la dieta influyó de manera importante en la TCE.

El contenido de proteína en la dieta fue provisto por harina de pescado (50%), harina de ave (20%), pasta de canola (10%), concentrado de proteína soluble de pescado (14%) y grenetina hidrolizada (6%), para conocer si alguno de los ingredientes proteicos tuviese un efecto sobre el crecimiento se evaluó la TEP la cual es útil en la comparación de diferentes fuentes proteicas en el mismo experimento, no se encontraron diferencias significativas. Reconociendo que el crecimiento es dado por la cantidad de proteína en la dieta no por las proporciones de los insumos proteicos, pues al tener alta digestibilidad resultan en un ahorro de la proteína de pescado (Barreto, 2016). Aunque se han reportado efectos negativos en animales por los antinutrientes de los ingredientes vegetales, no se observó ninguno ya que en este trabajo no se sobrepasó el límite de 15% de inclusión de la pasta de canola sugerido para *L. guttatus* (Olmeda, 2014), no obstante, se requiere de mayor investigación sobre el efecto a largo plazo pues el ácido erúcico presente en este ingrediente interviene en la actividad de la tiroides (Gatlin *et al.*, 2007).

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

La proteína que proviene de los alimentos es fragmentada en el tracto digestivo liberando aminoácidos que serán los precursores para la síntesis de nuevas proteínas que promueven el crecimiento, la reproducción y el mantenimiento del individuo.

El alimento experimental afecto de manera significativa la composición proximal de los organismos, al incrementar el nivel de proteína en la dieta también aumentó la proporción de proteína corporal, los valores son superiores al 18% reportado para *Lutjanus guttatus* (Olmeda, 2014) y *L. argentimaculatus* (Catacutan *et al.*, 2001; *Abbas et al.*, 2011), organismos alimentados con diferentes niveles de proteína en la dieta, desde un 20 hasta un 48%. Olmeda (2014) realizó una sustitución parcial de HP por harina de canola y reporta que cuanto mayor es la inclusión de canola en la dieta existe una mayor repercusión en los peces pues disminuye el porcentaje de proteína corporal hasta en un 16%, en este trabajo se observó que la sustitución de 10% de la harina de pescado por pasta de canola no tiene efecto negativo en la composición química de la carne puesto que al finalizar el experimento la proporción de proteína es mayor que al inicio. Cuando los animales se encuentran en etapa de crecimiento la síntesis de proteína excede la degradación, y el balance entre estos dos procesos resulta en el depósito de proteína o acreción (Millward, 1989). La proteína de estos organismos es superior que en otras especies marinas como *Dicentrarchus labrax*, *L. analis*, *L. argentimaculatus* y *L. guttatus* (Ballestrazzi *et al.*, 1994; Watanabe *et al.*, 2001; Abbas y Sidiqui, 2013; Sánchez, 2013).

Los lípidos en los peces del medio silvestre pueden variar de acuerdo con la temporada, la alimentación y la edad del organismo, en este trabajo la variación es el efecto directo de la dieta donde el valor más alto es de 5.49% y al compararlo con otros pargos en cultivo es inferior al intervalo de 5.7 a 14% que se ha reportado (Silva-Carrillo *et al.*, 2012;Sánchez, 2013;Olmeda, 2014); sin embargo, al observar los valores de pargos silvestres resultan ser similares pues se encuentran en un intervalo de 1 a 3.9% (Palani-Kumar *et al*., 2014). La cantidad de lípidos suele estar relacionada con la cantidad de humedad en el cuerpo, pero en este trabajo no se encontraron diferencias.

Las cenizas están compuestas por elementos esenciales, no esenciales y tóxicos o traza (Hardy y Barrows, 2002) el calcio, magnesio y el fosforo que conforman gran parte de las estructuras óseas, escamas, dientes y en menor medida en el metabolismo del pez. La concentración en los peces, pueden variar de una especie a otra o incluso entre poblaciones debido a sus hábitos alimenticios, ambiente o ecosistema (Palani-Kumar *et al*., 2014). Las diferencias significativas que se observan en la tabla 3 pueden ser el resultado del crecimiento, aquellos peces que fueron alimentados con mayor cantidad de proteína, tratamiento 5, fueron capaces de sintetizar una mayor cantidad de carne o músculo y tejido graso por lo tanto la proporción de cenizas en el cuerpo es menor que el tratamiento 1, similar a lo que reporta Catacutan *et al*. (2001) para *L. argentimaculatus*.

CONDICION FISIOLOGICA

El factor de condición establece la relación volumétrica en función del peso e indica el estado nutricional de los peces (Cifuentes *et al.*, 2012), en este experimento es de 1.19 en promedio y acompañado de los valores del IVS nos dice que el alimento suministrado no altero dicho estado, aunque Mexicano-Cintora (1986) reporta un FC de 2.6 para organismos silvestres indica que las variaciones en la misma especie pueden deberse al estadio, diferencias por el sexo, madurez sexual, estación del año y principalmente a cambios en el medio ambiente.

Otro indicador del estado nutricional es el hematocrito, los resultados obtenidos coinciden con el intervalo de 33.5 a 71.14 reportado para *Lutjanus guttatus* (Del Rio Zaragoza *et al*., 2011) y 44 a 46 para *L. argentimaculatus* (Abbas y Siddiqui, 2013), al no existir valores de referencia para *O. chrysurus* se infiere que los peces de este experimento se encuentran dentro lo normal y que los diferentes niveles de proteína en la dieta no lo modificaron.

A pesar de que las dietas son isolipidicas se observó un cambio en la proporción de grasa mesentérica de los peces como lo indican los valores del IGV sugiriendo que el aumento de proteína sustenta en gran medida la energía necesaria para el crecimiento y el mantenimiento de tal manera que los lípidos comienzan a acumularse (Glencross *et al.*, 2014), sin embargo se ha reportado que al acumular lípidos, el hígado puede desarrollar una hepatomegalia o hígado graso al incrementar las vacuolas lipídicas

(Catacutan y Pagador, 2004). Al analizar el IHS se puede observar que los valores más altos (1.7) corresponden a los peces de menor contenido lipídico, es decir, los peces del tratamiento 1 y 2; esto no concuerda con lo mencionado anteriormente por lo que es posible que este aumento en el tamaño del hígado sea por los carbohidratos y no por los lípidos pues la cantidad de glucógeno (Tabla 6) en el hígado coincide con la proporción de almidón en la formulación de la dieta. Los valores restantes se encuentran en el intervalo de 1.12 a 1.51 reportado para *L. olivaceus* y *L. rivulatus* en condiciones naturales (Edirisinghe *et al.*, 2013) y permanecen por debajo al 3.9 que reporta Abbas *et al.* (2011) para *L. argentimaculatus* en cultivo, aunque este último dato es mayor que el 2.5 reportado en peces herbívoros que consumen gran cantidad de carbohidratos como la carpa o el pez dorado (Hidalgo et al, 1999). Algunos autores han considerado que la digestibilidad de carbohidratos juega un papel importante en el aporte energético incluso en peces carnívoros (Ren *et al*., 2011; Glencross *et al.*, 2014), una opción para incrementar esta digestibilidad es extruir el alimento pues con ello se reduce el trabajo requerido por las enzimas digestivas (Hilton 1981).

ENZIMAS

Cuando el alimento es ingerido por el pez, atraviesa un proceso de digestión, absorción y asimilación en el que participan un gran número de enzimas a lo largo del sistema digestivo proporcionando péptidos, glúcidos y triglicéridos, que resultaran en la acreción y manutención del organismo (Silva-Carrillo *et al*., 2012).

Diversos autores (Zambonino-Infante y Cahu 1994a; Zambonino-Infante y Cahu 1994b; Péres *et al.* 1998; Fernández *et al.* 2001; Sáenz *et al.* 2005; Pérez-Jiménez *et al.*, 2009) han reportado que la actividad enzimática está relacionada con la cantidad de nutrientes del alimento ingerido, esto debido a la gran plasticidad fenotípica de los organismos (Zaldúa y Naya, 2014). Los resultados de la Tabla 7 muestran que la mayor actividad enzimática es en las proteasas ácidas del estómago (pepsinas), evidenciando que la digestión de las proteínas comienza en este sitio y que las diferencias entre los tratamientos obedecen a los diferentes niveles de proteína en la dieta, es decir, entre mayor es la cantidad de proteína en el alimento,

mayor es la actividad enzimática, coincidiendo con lo reportado para *Dentex dentex* (Pérez-Jiménez *et al.*, 2009) y *Centropomus parallelus* (Jesús-Ramírez *et al.*, 2017), ambos considerados especies carnívoras.

La digestión de las proteínas continúa con la participación de proteasas alcalinas que en este estudio no mostraron diferencias entre los tratamientos, pero se observa una actividad inferior al compararlas con la actividad de las ácidas. Otro tipo de enzima proteolítica que se encuentran en los intestinos es la Tripsina, en *Solea senegalensis* (Saenz de Rodrigañez *et al*., 2005) y *Lutjanus guttatus* (Moguel-Hernández *et al.*, 2014), ha mostrado participar en la digestión con mayor actividad que otras enzimas alcalinas y neutras, en el caso de *S. senegalensis* aún mayor que las pepsinas atribuyendo bioquímicamente un sistema digestivo de omnívoro a pesar de ser considerado carnívoro, para conocer si la tripsina es importante en el pargo canané es indispensable que se continúe con la investigación.

Las lipasas son enzimas pancreáticas encargadas de la digestión lipídica durante el paso del quimo por los ciegos pilóricos y es en esta estructura donde se absorbe la grasa en grandes cantidades, por ello la actividad de las lipasas disminuye hacia el intestino distal, tal como se observó en este experimento (Lagler, 1990; Olsen y Ringo, 1994). De manera general se observan valores bajos en la actividad comparada con las otras enzimas evaluadas, esta baja actividad se ha reportado en otras especies como *D. dentex* (Pérez-Jiménez *et al*.,2009) o *Seriola lalandi* (Miegel *et al*., 2010) y de acuerdo con Gjellesvik *et al.* (1992) puede estar compensada con la gran superficie de absorción que representa la organización de los ciegos pilóricos promoviendo la exposición prolongada de los lípidos a la lipolisis.

Anteriormente se mencionó la relación entre la cantidad de nutrientes en la dieta y la actividad enzimática, como lo reporta Zambonino-Infante y Cahu (1994A) en la respuesta de las amilasas de *Dicentrarchus labrax* al incremento de almidón en la dieta, sin embargo, en los valores que se obtuvieron para el pargo canané no presentaron diferencias significativas a pesar de que el contenido de almidón en las dietas es escalonado y que el alimento fue extruido con vapor para incrementar la hidrólisis los carbohidratos. Una posible explicación a este fenómeno es la regulación de la amilasa a nivel transcripcional en donde se mantiene la cantidad de RNAm amilasa y solo la traducción es ajustada por la cantidad de sustrato en la dieta (Péres *et al.*, 1998) lo que sugiere que los peces en este experimento secretan la amilasa a su máxima capacidad.

De manera general los resultados obtenidos de las enzimas digestivas se han discutido sin utilizar números por la gran variabilidad que se observa en la bibliografía estudiada producto de distintos factores tales como: 1) heterogeneidad en las técnicas que incluye cambios en el pH, temperatura y sustratos utilizados; 2) Condición biológica del organismo referente a las diferencias en tallas, edades, estado de salud, ayuno o recién alimentado; 3) tejido utilizado, entero o segmentado: estomago, hígado, páncreas, vesícula biliar, ciegos, intestino proximal-medio-distal u organismos completos; 4) análisis por individuo o en grupos (Hidalgo, 1999;NCR, 2011; Moguel-Hernández *et al.* 2014).

BIOENERGETICA

La energía es producto final de la absorción de nutrientes que son oxidados y metabolizados, el balance entre el aporte, el gasto y la ganancia quedó a favor de los peces bajo los tratamientos 4 y 5, pues en los restantes la perdida de energía por heces (EF) fue mayor.

Aunque las dietas son isoenergéticas se observó un incremento de energía digestible (DE) lo que permitió que una mayor cantidad de energía fuera dirigida hacia el crecimiento (RE) similar a lo observado en *Seriola quinqueradiata*, *Paralychthys olivaceus* y *Psetta maxima* (Watanabe *et al*., 2000, Lee *et al*., 2000, Dietz, 2012); este incremento se relaciona estrictamente con la cantidad de proteína en la dieta, pues los peces con mayor retención de energía fueron los de los tratamientos 4 y 5 donde se depositó mayor cantidad de proteína generando la mayor GP, las mejores pendientes de crecimiento y el FCA más eficiente. Incluso las excreciones no fecales (ZE+UE) muestran que el metabolismo está dirigido a las proteínas, cerca del 80% de estas excreciones son nitrogenadas correspondientes al metabolismo de los aminoácidos (Cho y Bureau, 2001) lo que concuerda con la actividad de las proteasas ácidas. De esta manera se demuestra que la proteína es la fuente primaria de energía en el pargo canané.

Glencross (2014) explica que cuando un pez es alimentado con bajos niveles de DE suele incrementar el consumo de alimento, aunque es incapaz de comer lo suficiente para una compensación completa. Es decir, indistintamente de los niveles de DE, la saciedad se presentará al otorgar una cantidad similar de alimento aunque el tiempo de estancia del quimo en el intestino puede variar, en este trabajo se evitó la sobrealimentación mediante el racionamiento y se observó otro mecanismo compensatorio a la escases

de DE, los peces del tratamiento 1 acumularon energía en forma de glucógeno en el hígado, posiblemente porque utilizaron la proteína y los lípidos como moneda energética en los procesos de crecimiento. y mantenimiento, incluso es posible que la grasa mesentérica no tenga un origen lipídico sino glucosídico, pero para discernir el origen es necesario una investigación más profunda en el tema de metabolismo intermediario.

9. CONLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el crecimiento, enzimas digestivas y balance energético, el requerimiento de proteína se encuentra entre 53 y 63%. No obstante, la proteína es considerada el nutriente más caro y con el fin de economizar, se concluye que el requerimiento de proteína de *Ocyurus chrysurus* se encuentra entre 53 y 58% de inclusión en la dieta cuando la proteína de pescado es sustituida por harina de ave y pasta de canola.

10. **RECOMENDACIONES**

Establecer parámetros hematológicos de referencia para *Ocyurus chrysurus*.

Evaluar el efecto de los antinutrientes de pasta de canola en los peces a largo plazo.

Es imprescindible profundizar en la investigación del metabolismo intermediario en esta especie.

Optimizar el balance de proteína:energía sustituyendo carbohidratos por lípidos.

11. BIBLIOGRAFIA

Abbas, G. y P. J. A. Siddiqui, 2013. The effects of varying dietary protein level on growth, feed conversion, bosy composition and apparent digestibility coefficient of juvenile mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal, 1775). Aquaculture Research. 44:807-818.

Abbas, G., P. J. A. Siddiqui y K. Jamil, 2011. The optimal protein requirements of juvenile mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* fed isoenergetic diets. Pakistan Journal of Zoology. 44(2):469-480 p.

Abdo de la Parra, M. I., L. E. Rodríguez-Ibarra, C. Hernández, K. Hernández, B. González-Rodríguez, I. Martínez-Rodríguez y A. García-Ortega, 2010. Efecto de diferentes niveles de proteína y lípidos totales en la dieta sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 45(3):433-439.

Allen, G.R., 1985. FAO Species Catalogue. Vol. 6. Snappers of the world. An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date. FAO Fish. Synop. 125(6):208 p

Amador del Angel, L. E. y P. Cabrera-Rodríguez, 1999. Peces de la Laguna de Términos y Sonda de Campeche con potencial para el desarrollo de la maricultura. En: Sánchez-Zamora A, Cruz-Burguete J.L, Amador-del Ángel L.E. (Eds). Memorias del Taller Potencialidad de la Piscicultura en el Estado de Campeche y Prioridades en la Investigación. Universidad Autónoma de Campeche, pp.65-81.

Anson, M. L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. Journal of General Physiology. 22: 248-254.

AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

Arenas, M., 2015. Requerimiento de proteína en robalo blanco *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972), cultivado en alta y baja salinidad. Tesis Maestría. UNAM. México. 87 p.

Asgeirsson, B. y J. B. Bjarnasson. 1991. Structural and kinetic properties of chymotrypsin from Atlantic cod (*Gadus morhua*). Comparison with bovine chymotrypsin. Comparative Biochemistry and Physiology. 99B: 327-335.

Ballestrazzi, R., D. Lanari, E. D'Agaro y A. Mion, 1994. The effect of dietary protein level and source of growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 127:197-206.

Barreto, A., 2016. Evaluación de la digestibilidad in vitro y aparente en distintas fuentes de proteína en juveniles de pargo canané (*Ocyururs chrysurus*). Tesis Maestría. UNAM. México. 51 p.

Bligh E. G. De W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8): 911-917

Botero, J. y J. F. Ospina, 2002. Crecimiento de juveniles de pargo palmero *Lutjanus analis* (Cuvier) en jaulas flotantes en islas del rosario, caribe colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras 31:205-217.

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72(1-2):248-254.

Cantarell, E. E.,1982. Determinación de la edad y el ritmo de crecimiento del pargo canané (*Ocyurus chrysurus*, Bloch 1791), en el litoral del Estado de Yucatán, México 1980/81. Tesis de Licenciatura. UNAM. México. 96 p.

Carrol, N., R. W. Longley y J. H. Roe, 1956. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. Journal of Biological Chemistry. 220: 583-593.

Catacutan, M. R. y G. E. Pagador, 2004. Partial replacement of fishmeal by defatted soybean meal in formulated diets for the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatu*s (Forsskal, 1775). Aquaculture Research. 35:299-306.

Catacutan, M. R., G. E. Pagador y S. Teshima, 2001. Effect of dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios on growth, survival and body composition of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal, 1775). Aquaculture Research. 32:811-818.

Chen, H. Y. y J. C. Tsai, 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semi purified diets. Aquaculture. 119: 265-271.

Cho, Y. y D. P. Bureau, 1998. Development of bioenergetic models and the Fish-Pr FEQ software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture. Aquatic Living Resources, 11(4):199-210.

Cho, Y. y D. P. Bureau, 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. Aquaculture Research. 32(1):349-360.

Cifuentes, R., J. González, G. Montoya, A. Jara, N. Ortiz, P. Piedra y E. Habit, 2012. Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile). Gayana. 75(2):101-110.

Cocheret, E., B. Pollux y I. Nagelkerken, 2002. Post-settlement life Cycle migration patterns and habitat preference of coral reef fish that use seagrass and mangrove habitats as nurseries. Estuarine Coastal and Shelf Science, 55(2):309-321.

CONAPESCA, 2013. Anuario estadístico de Acuacultura y Pesca. México. 209 p.

Cowey, C. B., 1975. Aspects of protein utilization by fish. Proceedings of the Nutrition Society. 34:57-63.

Del Rio Zaragoza, O. B., E. J. Fajer, P. Almazán-Rueda y M. I. Abdo de la Parra, 2011. Hematological characterisstics of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) healthy and naturally infected by dactylogyrid monogeneans. Tissue and Cell. 43:137-142.

Dietz, C., 2012. Investigations on energy metabolism of juvenile turbot. Tesis Doctorado. Alemania. 99 p.

Edirisinghe, D. M. A., P. R. T. Cumaranatunga, K. Radampola y P. T. Kirindearachchige, 2013. Analysis of proximate composition and consumer preference of three reef fish species. Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences. 18:27-36.

Erlanger, B., N. Kokowsky y W. Cohen. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistry and Biophysics. 95: 271-278.

FAO, 2014. Estado mundial de la pesca y la acuicultura. Oportunidades y desafíos. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma. 274 p.

FAO, 2016. Estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma. 226 p.

Fernández, I., F. J. Moyano, M. Díaz y T. Martínez, 2001. Characterization of α-amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae-Teleostei). Journal of Marine Biology and Ecology. 262:1-12.

García, T. R. R., M. Cervantes y A. Ancona, 2006. Evaluación del crecimiento de pargo canané *Ocyurus chrysururs* y Biajaiba *Lutjanus synagris* cultivadas en jaulas flotantes en la costa de Lerma, Campeche, México. IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. p. 1-8.

Gatlin, D. M., F. T. Barrows, P. Brown, K. Dabrowski, T. G. Gaylord, R. H. Hardy, E. Herman, G. Hu, A. Krogdahl, R. Nelson, K. Overturi, M. Rust, W. Sealey, D. Skonberg, E. J. Souza, D. Stone, R. Wilson y E. Wurtele, 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture Research. 38:551-579.

Gjellesvik, D. R., D. Lombardo y B. T. Walther, 1992. Pancreatic bile salt dependent lipase from cod (*Gadus morhua*): purification and properties. Biochimica et Biophysica Acta. 1124:123-134.

Glencross, B., D. Blyth D., S. Irvin, N. Bourne y N. Wade, 2014. An analysis of the effects of different dietary macronutrient energy sources on the growth and energy partitioning by juvenile barramundi, *Lates calcalifer*, reveal a preference for protein-derived energy. Aquaculture Nutrition. 20:583-594

Hardy, R. y F. Barrows, 2002. Diet formulation and Manufacture. En: Halver, J. y R. W. Hardy (Eds). Fish Nutrition. 3ra edición. USA. Pp. 505-600.

Harrigan, P., J. C. Zieman y S. A. Macko, 1989. The base of nutitional for the gray snapper *(Lutjanus griseus*): an evaluation base on a combined stomach content and stable isotope analysis. Bulletin of Marine Science, 44(1):65-77.

Hidalgo, M. C., E. Urea y A. Sanz, 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture. 170:267-283.

Hilton, J. W., C. Y. Cho y S. J. Slinger, 1981. Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, pellet water absorption, and the physiological response of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture. 25(2-3):185-194.

INEGI, 2012. Anuario estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. México. 785 p.

Jesús-Ramírez, J., C. A. Álvarez-González, H. G. Nolasco-Soria, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, K. Conway y C. Pohlenz, 2017. Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (*Centropomus parallelus*). Hidrobiológica. 27(3):419-427.

Kunitz, M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor. General properties. The Journal of General Physiology. 30: 291-310.

Lagler, I., J. Bardach, W. Miller y A. Passino, 1990. Ictiología. AGT Editor. México. 432 p.

Lee, J. K., S. H. Cho, S. U. Park, K. D. Kim y S. M. Lee, 2003. Dietary protein requirement for Young turbot (*Scophthalmus maximus,* L.). Aquaculture Nutrition, 9:383-286.

Lee, S. M., S. H. Cho y K. D. Kim, 2000. Effects of dietary protein and energy levels on Growth and Body composition of Juvenile Flounder *Paralichthys olivaceus*. Journal of the World Aquaculture Society. 31(3):306-315.

Maroux, S., D. Louvard y Baratti, 1973. The aminopeptidase from hog intestinal brush boerder. Biochimica et Biophysica. 321: 282-295.

Mexicano-Cintora, G., 1986. Contribución al conocimiento de la pesquería del pargo canané (*Ocyurus chrysurus*, Bloch 1791), en el litoral del estado de Yucatán, México. Tesis de licenciatura. UNAM. México. 92 p.

Mexicano-Cintora, G., 1999. Crecimiento del pargo canané *Ocyurus chrysurus* (Bloch, 1791) de la Costa Norte de Yucatán, México. Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute, 45:338-348.

Miegel, R. P., S. J. Pain, W. H. E. J. Van Wettere, G. S. Howath, y D. A. J. Stone, 2010. Effect of water temperature on gut transit time, digestive enzyme activity and nutrient digestibility in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). Aquaculture. 308:145-151.

Millward, D. J., 1989. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. Aquaculture, 79:1-28.

Moguel-Hernández, I., R. Peña, H. Nolasco-Soria, S. Dumas y I. Zavala-Leal, 2014. Development of digestive enzyme activity in spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1986) larvae. Fish Physiology Biochemistry. 40:839-848.

Munguía, G. A., 2010. El futuro económico de la pesca. 112-115 p. En: Durán R. y M. Méndez (Eds). Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. 496 pp.

Nagelkerken, I. y G. Van der Velde, 2004. Are Caribbean mangroves important feeding grounds for juvenile reef fish from adjacent seagrass beds?. Marine Ecology Progress Series, 274:143-151.

Noga, E., 2010. Fish disease: diagnosis and treatment. 2° Ed. Wiley-Blackwell. EUA. 538 p.

NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. The national academies press. EUA. 376 p.

Olmeda, G. L. P., 2014. Diseño y evaluación de dietas a base de harina de Canola para la alimentación del pargo flamenco. Tesis de Maestría. UNAM. México. 71 p.

Olsen, R. E. y E. Ringo, 1997. Lipid digestibility in fish: A review. Recent Research Developments in Lipid Research. 1:199-264.

Olvera, N. M. A., C. A. Martínez y E. Real de León, 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. FAO, Italia. Consultado en: http://www.fao.org/3/contents/a982de1c-98df-5e67-a0cb-1e92724d2822/AB489S00.htm Activo: 02-febrero-2016.

Palani-Kumar, M., A. Ruba-Annathani, R. Jeya Shakila y S. A. Shanmugam, 2014. Proximate and major mineral composition of 23 medium sized marine fin fishes landed in the Thoothukundi coast of India. Journal of Nutrition & Food Sciences. 4(1):259 doi 10.4172/2155-9600.1000259.

Péres, A., J. L. Zambonino-Infante y C. Cahu, 1998. Dietary regulation of activities and mRNA levels of trypsin and amylase in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. 19:145-152.

Pérez-Jiménez, A., G. Cardenete, A. E. Morales, A. García-Alcázar, E. Abellán y M. Carmen Hidalgo, 2009. Digestive enzymatic profile of *Dentex dentex* and response to different dietary formulations. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 154:157-164.

Persson, J. A., 2008. Handbook for Kjeldahl digestion. A recent review of the classical method with improvements developed by FOSS. CA Andersson, Malmoe, Suecia. 84 p.

Ren, M., Q. Ai, K. Mai, H. Ma y X. Wang, 2011. Effect of dietary carbohydrate level on growth performance, body composition, apparent digestibility coefficient and digestive enzyme activities of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. Aquaculture Research. 42:1467-1475.

Riley, C. M., G. J. Hoit y C. R. Arnold. 1995. Growth and morphology of larval and juvenile captive bred yellowtail snapper, *Ocyurus chrysururs*. Fishery Bulletin 93(1): 179-185.

Rincón-Sandoval, L. A., T. Brulé, J. L. Montero-Muñoz y E. Pérez-Díaz, 2010. Dieta de la Rabirrubia *Ocyurus chrysurus* (Lutjanidae: Lutjanidae) y su variación temporal en la costa de Yucatán, México. Proceedings of the 62nd Gulf and Caribbean Fisheries Institute. 207-218.

Robyt, J. F. y Whelan, 1968. Amylases. In: Starch and its derivates, Radley, J. A. (Eds) Chapman and Hall, London, 497 p.

Roo, J., J. Socorro, R. Guirao, T. Reyes, C. Hernández-Cruz, H. Fernández-Palacios y M. S. Izquierdo, 2005. Primeras experiencias de engorde de jurel dentón *Pseudocaranx dentex* (Bloch y Schneider,1801) en tanques en laboratorio y jaulas flotantes en Canarias. Boletin del Instituto Español de Oceanografía. 21(1-4):201-206.

Rosas, C., A. Sánchez, E. Chimal y R. Brito, 2003. Manual de métodos para la evaluación del balance energético en crustáceos. Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 43 p.

Sáenz de Rodrigáñez M., F. J. Alarcón, M. I. Martínez, F. Ruiz, M. Díaz y F. J. Moyano, 2005. Caracterización de las proteasas digestivas del lenguado senegalés Solea senegalensis Kaup, 1858. Boletín del Instituto Español de Oceanografía. 21(1-4):95-104.

SAGARPA, 2012. Proyectos de desarrollo tecnológico seleccionados. Proyecto estratégico trópico húmedo. México. 2 p.

SAGARPA, 2014. Proyecto de modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-065-PESC-2007, para regular el aprovechamiento de las especies de mero y especies asociadas, en aguas de jurisdicción federal del litoral del Golfo de México y Mar Caribe. Diario Oficial de la Federación. México. 8 p.

Sánchez, R. J. E., 2013. Efecto de la sustitución parcial de la harina de pescado por una mezcla de Krill-Soya en la dieta de juveniles de pargo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Tesis Maestría. UNAM. México. 71 p.

Silva-Carrillo, Y., C. Hernández, R. W. Hardy, B. González-Rodríguez y S. Castillo-Vargasmachuca, 2012. The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Aquaculture. 364-365:180-185.

Tacon, A. G. J., 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. FAO, Italia. Consultado en: http://www.fao.org/docrep/field/003/ab492s/AB492S01.htm#ch1. Activo: 10-Febrero-2016.

Turano, M. J., D. Allen y C. R. Arnold, 2000. Observations and techniques for Maturation, spawning and larval rearing of the Yellowtail snapper *Ocyurus chrysurus*. Journal of the World Aquaculture Society, 31(1): 59-68.

Versaw, W.K., Cuppert, S.L., Winter, D.D., Williams, L.E., 1989. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in non fat dry milk. J. Food Sci. 54, 1557–1558.

Walter, H. E., 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. En: Bergmeyem H. J. (Ed.). Methods of Enzymatic Analysis. Vol. V, Velag Chemie. Weinham. Pp. 270-277.

Watanabe, K., K. Ura, T. Yada, V. Kiron, S. Satoh y T. Watanabe, 2000. Energy requirements of yellowtail for máximum growth and maintenance of body weight. 66:1053-1061.

Watanabe, W. O., S. C. Ellis y J. Chaves, 2001. Effects of dietary lipid and energy to protein ratio on growth and feed utilization of juvenile mutton snapper Lutjanus analis fed isonitrogenpus diets at two temperatures. Journal of the World Aquaculture Society. 33(1):30-40.

Wilson, R. P., 2002. Amino Acids and proteins. En: Halver, J. y R. W. Hardy (Eds). Fish nutrition. 3ra edición. USA. Pp.143-179.

Zaldúa, N. y D. E. Naya, 2014. Digestive flexibility during fasting in fish: A review. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 169:7-14.

Zambonino-Infante, J. L. y C. Cahu, 1994a. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish physiology and Biochemistry. 12(5):399-408.

Zambonino-Infante, J. L. y C. Cahu, 1994b. Influence of diet on pepsine and some pancreatic enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Comprative Biochemistry and Physiology. 109(2):209-212.