



UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
Departamento de Ciencias Químico Biológicas

“Efecto de la sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal en el alimento sobre la condición fisiológica de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).”

TESIS

Como requisito para obtener el grado de:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Jesús Tadeo Hernández Oloño

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2017

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis Profesional de Jesús Tadeo Hernández Oloño la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico en Alimentos.

Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera
Presidente

M.C. Dalila Fernanda Canizales Rodríguez
Secretario

M.C. Nathaly Montoya Camacho
Vocal

Q.B. César Benjamín Otero León
Suplente

DERECHOS DE AUTOR

Hermosillo, Sonora, 21 de agosto de 2017

UNIVERSIDAD DE SONORA

PRESENTE.

Por medio de la presente, quien suscribe, Jesús Tadeo Hernández Oloño egresado(a) del programa Químico en Alimentos con No. de expediente 210203857, hago constar que soy autor intelectual del trabajo profesional titulado “Efecto de la sustitución de proteínas de origen animal por proteína de origen vegetal en el alimento sobre la condición fisiológica de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)” y otorgo el derecho, pero no la obligación, a la Universidad de Sonora para su digitalización, difusión, divulgación, distribución, reproducción, así como su publicación en Biblioteca Digital, para que sea consultada a través de internet con fines académicos y de investigación.

La Universidad de Sonora se compromete a respetar en todo momento mi autoría y otorgarme el crédito correspondiente, en todas las actividades mencionadas anteriormente de la obra.

Asimismo, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general, cualquier parte del trabajo profesional, son mi responsabilidad, por lo que deslindo a la Universidad de Sonora por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual que cometa el suscrito ante terceros en relación con la obra.

Otorgo la presente cesión no exclusiva de derechos morales y limitados a los actos estipulados en el párrafo primero, que me corresponden como autor, con carácter indefinido e irrevocable, como compromiso moral y agradecimiento a la Institución que me brindó la oportunidad de prepararme profesionalmente.

Jesús Tadeo Hernández Oloño

AGRADECIMIENTOS

A **Dios, destino, naturaleza, o lo que seas o llames**, por darme la oportunidad de nacer y poder forjar mi destino a pesar de nacer con déficit de atención y lograr lo que pocos con esta condición alcanzan.

A mi director de tesis **Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera** por darme la oportunidad de poder trabajar en este proyecto de investigación, depositar su confianza en mí en este proyecto. Gracias por darme la oportunidad de dar mis primeros pasos para mi formación profesional en el área de investigación. Gracias por su amistad y paciencia durante este proceso tan agotador.

Al igual a mi comité de tesis, **M.C. Dalila Fernanda Canizales Rodríguez, Q.B. César Benjamín Otero León y a la M.C. Nathaly Montoya Camacho** por sus comentarios, apoyo, aportaciones y alentarme durante el desarrollo de mi tesis. Gracias por su amistad y paciencia en especial en el momento más difícil la parte práctica.

A mis amigos y hermanos **César y Víctor**, por su amistad y camaradería durante todos estos años. Sin ustedes no sé dónde estuviera en estas alturas de mi vida. Thanks my brothers.

A la **Mtra. Rossy Lerma**, por todo su apoyo y amistad durante toda mi carrera, por darme la oportunidad de ser asesor de Química Orgánica durante el transcurso de mi carrera y ser la mejor asesora académica.

A **todos mis maestros de la carrera**, gracias por todo su conocimiento y por compartir sus experiencias en el área de la química.

A la **Mtra. Obdulia, la Mtra. Bernal, la Mtra. Valencia, la Mtra. Mónica, el Mtro. Mario Hiram, y el Mtro. Gustavo Lugo** por despertar en mí el interés en la química y en la ciencia siendo apenas un adolescente.

A todos mis compañeros de carrera en especial a **Rafael, José Luis y Fernanda** por su amistad, paciencia, apoyo y por todo lo compartido durante toda la carrera.

DEDICATORIA

Con todo mi amor a mis Padres **José y Fernanda**; mis hermanos **José Manuel y Luz Fernanda**; a mí tía **Pama**; mi abuelo **Manuel** y toda mi familia **Hernández y Oloño**. Gracias por todo el apoyo y cariño incondicional brindado durante todos estos años.

“Lo importante es nunca dejar de preguntar.”

Albert Einstein

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinó el efecto que ejerce la sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal en peces alimentados con distintos grados de sustitución (0%, 50%, 100%), sobre el crecimiento, desarrollo, fisiología y composición proximal del músculo de tilapias del Nilo *Oreochromis niloticus*. Se formularon 3 alimentos experimentales con el software Nutriton PRO 5, los cuales contenían hasta un 20% de proteína de origen animal (harina de sardina), mientras que los ingredientes como fuentes de proteínas de origen vegetal fueron soya, trigo, maíz y sorgo. Los grados de sustitución fueron de 0% (D₀), 50% (D₅₀) y 100% (D₁₀₀). Para comprobar que los alimentos experimentales no difieren en su composición, se sometieron a un análisis químico proximal, para ser comparados entre ellos y un alimento control (D_C). Se realizó un bioensayo durante 60 días en condiciones ambientales controladas, periodo en el cual se suministraron los diferentes alimentos a las 8, 13 y 17 h diariamente para evaluar el efecto de la sustitución sobre los parámetros de desarrollo y crecimiento. Se realizaron 9 biometrías durante el bioensayo en donde se determinó el efecto de la sustitución sobre la supervivencia, tasa de crecimiento específica (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA), tasa relativa de crecimiento (TRC) y peso ganado. Terminado el bioensayo, se procedió al sacrificio de los especímenes con shock térmico en agua con hielo, e inmediatamente después fueron fileteados manualmente. Los filetes obtenidos se empacaron en bolsas de polietileno, se congelaron a -80°C y se transportaron en hieleras para ser almacenados en el Laboratorio de Investigación en Alimentos (LIA) del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora hasta el momento del análisis fisiológico y composición proximal. Los indicadores fisiológicos analizados fueron el ATP, carga energética adenilada (CEA), contenido de glucógeno, carbohidratos totales y pH. Los resultados obtenidos indicaron de forma general que los niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) evaluados en el presente trabajo de investigación, no afectaron la condición fisiológica, crecimiento y desarrollo de las tilapias alimentadas con dichas formulaciones, por lo que su utilización representa una alternativa viable y con gran potencial comercial para reducir los costos de producción ocasionados por el alimento y sin impactar la condición fisiológica, desarrollo y crecimiento de las tilapias.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....	ii
DERECHOS DE AUTOR	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN.....	vi
CONTENIDO	vii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABLAS.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN BIBLOGRÁFICA	4
Producción Mundial y Nacional de Tilapia del Nilo	4
Generalidades de la Tilapia del Nilo	4
Distribución Geográfica.....	4
Morfología.....	5
Tipos de Cultivo de Tilapia del Nilo	6
Por Cantidad:.....	6
Por Tipo de Estanque:	6
Parámetros de Cultivo.....	7
Temperatura	7
Oxígeno Disuelto	7
Salinidad.....	8
pH.....	8
Amoniaco.....	8
Nitritos y Nitratos	9
Requerimientos Nutricionales de la Tilapia.....	10
Proteínas de Origen Animal	11

Proteínas de Origen Vegetal	12
Fisiología de la Tilapia.....	14
Obtención de Energía	14
Disminución de pH.....	16
HIPÓTESIS	17
OBJETIVO GENERAL	18
Objetivos Específicos	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
Manejo de los Organismos.....	19
Condiciones y Desarrollo del Sistema Experimental.....	19
Etapa 1. Formulación, Elaboración y Análisis Químico Proximal de los Alimentos Experimentales	20
Análisis Químico Proximal de los Alimentos Experimentales	21
Etapa 2. Efecto de la Sustitución de Proteínas de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal, sobre el Desarrollo Biológico y el Crecimiento de los Organismos.....	22
Determinación de los Parámetros Biológicos y de Crecimiento	22
Determinación de los Parámetros de Calidad del Agua del Sistema Experimental	24
Etapa 3. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal sobre los Cambios Fisiológicos	24
Cuantificación del ATP.....	24
Carga Energética Adenilada (CEA).....	25
Cuantificación del Glucógeno	25
Contenido de Carbohidratos Totales.....	26
Determinación del pH	27
Etapa 4. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal por Proteína de Origen Vegetal, sobre la Composición Química Proximal en el Músculo.....	27
Análisis Químico Proximal del Músculo de los Organismos Experimentales.....	27
Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29

Etapa 1. Formulación, Elaboración y Análisis Químico Proximal de los Alimentos Experimentales.	29
Etapa 2. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteínas de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal, sobre el Desarrollo Biológico y el Crecimiento de los Organismos.....	30
Determinación de la Calidad del Agua durante el Bioensayo.....	30
Etapa 3: Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal sobre los Cambios Fisiológicos.	33
Contenido de ATP.....	33
Carga Energética Adenilada.....	34
Contenido de Carbohidratos Totales.....	35
Contenido de Glucógeno.....	35
pH.....	37
Etapa 4. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal por Proteína de Origen Vegetal, sobre la Composición Química Proximal en el Filete	37
CONCLUSIONES	39
RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía externa de la tilapia del Nilo.	5
Figura 2. Equilibrio de amoníaco con agua.	9
Figura 3. Principales metabolitos relacionados con la obtención de energía aeróbica y anaeróbica en organismos acuáticos.	155

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de requerimiento proteico de la tilapia del Nilo según etapa de desarrollo	11
Tabla 2. Formulación de los alimentos experimentales	233
Tabla 3. Composición química proximal de los alimentos experimentales elaborados (D ₀ , D ₅₀ y D ₁₀₀) y alimento control (D _c).	30
Tabla 4. Determinación de los parámetros de calidad del agua del sistema experimental.	31
Tabla 5. Parámetros biológicos y de crecimiento de las tilapias (<i>O. niloticus</i>) alimentadas con los diferentes niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control.....	32
Tabla 6. Parámetros fisiológicos de las tilapias alimentadas con los diferentes niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control	34
Tabla 7. Composición proximal de los músculos de tilapia alimentados con los diferentes niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control.....	38

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, a nivel mundial la acuicultura tiene gran importancia para la producción de peces de agua dulce y salada, produciendo un total de 73.8 millones de toneladas en el 2014 (FAO, 2016). En la acuicultura, se utilizan distintos tipos de fuentes de proteínas como alimentos para peces, entre estas se encuentran las proteínas de origen animal en forma de pellets, las cuales se elaboran a base de harina de pescado, sin embargo, debido a su alto costo y demanda, se buscan alimentos con proteínas alternativas que permitan sustituir a la harina de pescado y con ello, reducir su costo (Ayaid, *et al.*, 2012).

La tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es una de las especies más cultivadas por su facilidad de siembra, así como por su alta resistencia y su capacidad de tolerancia a determinadas condiciones ambientales como pH (entre 6.5 y 9.0), y temperatura (entre 12 y 42°C); y además por ser un organismo omnívoro. A nivel mundial, la producción de tilapia es muy grande, alcanzando un valor de 3.67 millones de toneladas en el año 2014 (FAO, 2016). En México, esta especie es de gran importancia económica (CONAPESCA, 2013) siendo la especie más producida en la acuicultura, aportando el 39.40% de la producción nacional en el 2013. Dicho organismo se alimenta principalmente de fitoplancton, algas, pequeños crustáceos y algunas plantas del medio. Debido a la diversidad de su alimentación, la tilapia es viable para evaluar la sustitución de diferentes fuentes de proteína, lo cual podría permitir la elaboración de un alimento más económico, además, es un buen candidato para evaluar el efecto de dicha sustitución sobre la fisiología, crecimiento y calidad del producto final (Cantor-Atlantenco, 2007; El-Sayed, 2003; Cho y Jo, 2002; Maina *et al.*, 2002).

La harina de pescado es la principal fuente de proteína en las dietas que se emplea como alimento en la acuicultura. Esto se debe a su alto balance de aminoácidos esenciales, ácidos grasos, vitaminas, minerales y palatabilidad (Suárez *et al.*, 2009). El alimento representa uno de los gastos más elevados durante el cultivo. Esto se debe a la gran demanda que tiene, así como a las fluctuaciones en los volúmenes de captura de los peces que se emplean para su elaboración, lo cual produce variaciones en los volúmenes de harina producidos y que con ello se incrementa su precio (Duarte *et al.*, 2009; Naylor *et al.*, 2009; IFFO, 2006), por consiguiente, se ha tenido que recurrir al uso de otras alternativas de proteína más barata pero igual de eficiente que la de pescado (Salze *et al.*, 2010; Tacón, 1989).

La utilización de proteína de origen vegetal es una buena alternativa para reducir los costos de la producción de alimentos para peces. Debido a la falta de aminoácidos esenciales como la lisina y metionina, resulta importante utilizar combinaciones de proteínas de origen vegetal para evitar estas deficiencias, lo cual también se podría reducir fortificando los alimentos con aminoácidos o vitaminas (Ayaid *et al.*, 2012).

Factores previos al sacrificio de los peces, como la nutrición, juegan un papel importante en la calidad y vida de anaquel del filete. A diferencia de otros animales como la res y las aves, los peces son muy sensibles a las condiciones *antemortem*, las cuales afectan la fisiología y la calidad y vida de anaquel. Estos factores pueden ser divididos de factores intrínsecos (especie, sexo, maduración y edad) y factores extrínsecos (medio ambiente y disponibilidad de alimento). A diferencia de los peces en su habitat natural, a los peces de acuicultura se le suministra la cantidad necesaria de alimento y se les simulan las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo. Un factor de gran influencia en el desarrollo y crecimiento y que afecta la condición fisiológica de los peces, es el estrés que se produce al momento del sacrificio. Factores extrínsecos como el estrés y la mala alimentación afectan de forma significativa al desarrollo de los peces y esto se ve reflejado en la vida de anaquel de los músculos (Álvarez-Trujillo, 2012; Cantor-Atlantenco, 2007). Estos factores tienen como consecuencia un consumo acelerado de glucógeno en el músculo, produciendo una reducción en el pH muscular, pérdida en textura, capacidad de retención de agua (CRA) y frescura (Günşen *et al.*, 2011; Ocaño-Higuera, 2003; Haard, 1992; Ashie *et al.*, 1996; Sikorski *et al.*, 1990; Pearson y Young, 1989; Forrest *et al.*, 1975).

La nutrición tiene una relación directa con los requerimientos de desarrollo de los peces, la ración de alimento ingerido y el crecimiento con el tipo de ingrediente presente en el alimento. El crecimiento se centra en la relación de energía utilizada y proteína ingerida (Álvarez-Trujillo, 2012). Ayaid *et al.* (2012) compararon distintas fuentes alternativas de proteína (harinas de maíz, trigo, semillas de girasol, semillas de algodón) para poder determinar las ventajas y desventajas de utilizar estas distintas fuentes vegetales. Por otra parte, Elangovan y Shim (2000) recomendaron una sustitución parcial de la harina de pescado por harina de soya, hasta un 33%, ya que una sustitución mayor tiene efectos adversos en el crecimiento. Burr *et al.* (2012) indicaron que el nivel de la sustitución de la proteína de origen vegetal en el alimento depende principalmente de la selección adecuada de mezclas de las diferentes fuentes (harinas vegetales y/o derivados).

Por lo anterior, el objetivo de presente trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal en varios niveles en el alimento, sobre la condición fisiológica de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Lo anterior podría permitir un mejor aprovechamiento de esta especie.

REVISIÓN BIBLOGRÁFICA

Producción Mundial y Nacional de Tilapia del Nilo

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en el año 2016, reportó que la producción pesquera mundial en el 2014 fue de 167.2 millones de toneladas, de las cuales 73.8 millones de toneladas fueron aportadas por la acuicultura siendo el camarón, salmón y la tilapia las especies más producidas a nivel mundial (FAO, 2016).

En México, CONAPESCA (2013) reportó una producción de 96,827 toneladas de tilapias de cultivo, aportando un 2.83% de la producción mundial en 2013 (FAO, 2016) y a nivel nacional aportó el 39.40% de la producción total por acuicultura, siendo la especie más producida por esta vía. Este mismo organismo indicó que Jalisco es el mayor productor de tilapia a nivel nacional con una producción del 20.51% de la producción total de esta especie, seguido de Chiapas (16.12%), Veracruz (11.25%) y Michoacán (9.45%) (CONAPESCA, 2013).

Generalidades de la Tilapia del Nilo

Originarias del área tropical de África y de Medio Oriente, pertenecen a la familia *Cichlidae*, que abarca más de 100 especies, de las cuales las más representativas a nivel de piscicultura y acuicultura son *O. aureus* (tilapia azul), *O. niloticus* (tilapia del Nilo) y *O. mossambicus* (tilapia de Mozambique) (Montoya-Camacho, 2013; Cantor-Atlantenco, 2007).

Distribución Geográfica

La tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es una especie que habita en aguas cálidas, encontrándose distribuida en regiones tropicales y subtropicales alrededor del mundo (FAO, 2016, Montoya-Camacho 2013; Cantor-Atlantenco 2007). Sus hábitats naturales suelen ser aguas dulces como arroyos, ríos y lagos; sin embargo, también se pueden encontrar en aguas salobres o saladas alcalinas, estuarios y lagunas costeras, incluso se pueden encontrar en hábitats marinos (FAO, 2016).

Morfología

Morfológicamente poseen un cuerpo alargado y comprimido (Montoya-Camacho, 2013), bocas anchas y con facilidad de estirarse debido a que las hembras incuban los huevos desovados en la boca hasta el momento del nacimiento (Toledo-Pérez y García-Capote, 2000). Para su locomoción, poseen 2 aletas pares; pélvicas y ventrales y 3 aletas impares; dorsal, caudal y anal. Las aletas dorsal y anal constan de varias espinas y la parte terminal tiene radio suave, disponiendo su aleta dorsal en forma de cresta. La aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, ésta es la encargada de brindar equilibrio al momento de nado en los peces (Figura 1) (Montoya-Camacho, 2013).

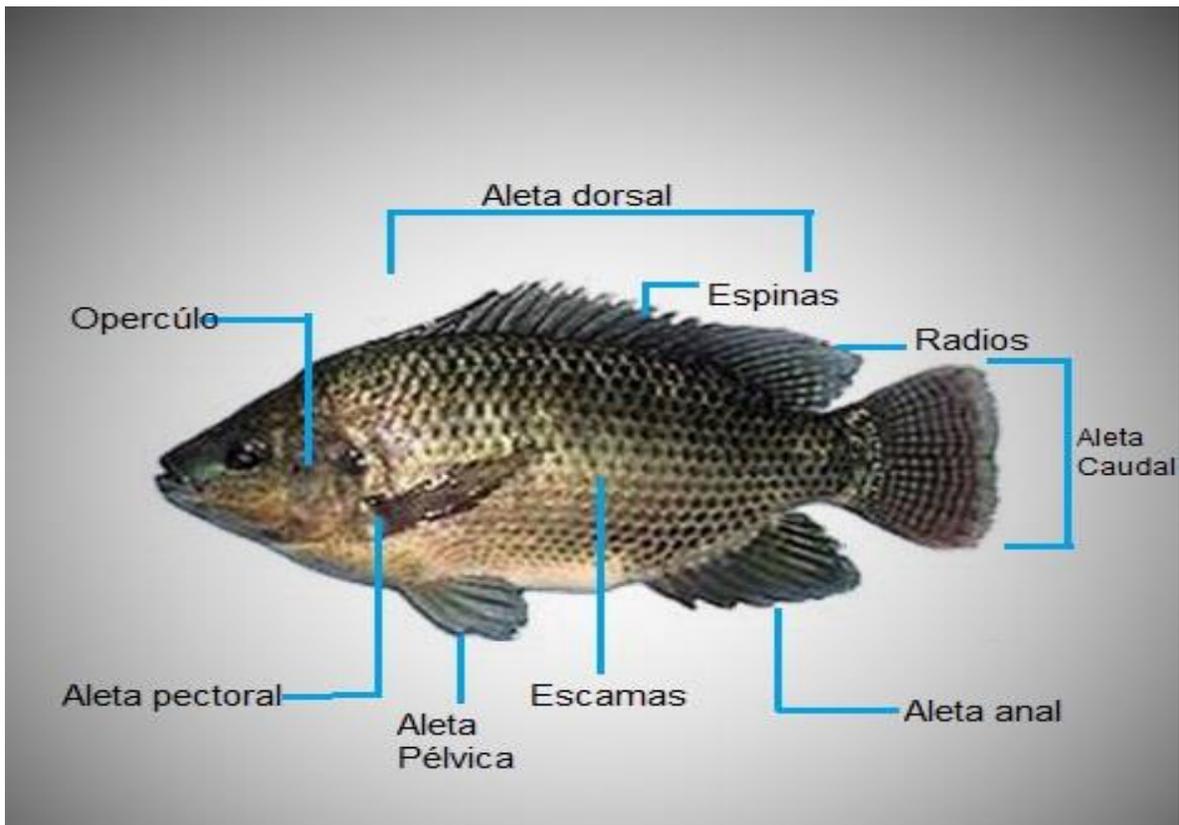


Figura 1. Anatomía externa de la tilapia del Nilo (Adaptado de Montoya-Camacho, 2013).

Tipos de Cultivo de Tilapia del Nilo

La siembra de este espécimen inició desde hace más de 4000 años en Egipto (FAO, 2016; Toledo-Pérez y García-Capote, 2000; El-Sayed, 1999). En el año de 1939, la tilapia fue distribuida a diferentes países del mundo por su valor comercial, al igual que por su gran capacidad de adaptación. En la actualidad, se cultiva en países tropicales y subtropicales donde se favorece su crecimiento y reproducción (FAO, 2016). En el año de 1964, se introdujo a México para su cultivo rural (INAPESCA, 2003).

Existen diversos tipos de cultivos de tilapia, los cuales se definen en función de la cantidad de la biomasa por determinado volumen o tipo de estanque en donde se cultivan (artificial, natural o una combinación de ambos) (Cantor-Atlantenco, 2007, INAPESCA, 2003).

Por Cantidad de la Biomasa:

- Cultivo extensivo: de baja intensidad, en estanques rústicos, donde el alimento es natural (fertilizantes orgánicos o ecosistema del estanque), la densidad es de 1,000 a 5,000 peces/ha.
- Cultivo semi-intensivo: se pueden hacer en estanques rurales o rústicos y estanques artificiales donde los peces son alimentados con productos tales como fertilizantes orgánicos e inorgánicos en caso de los rurales y en caso de los artificiales con alimentos comerciales para peces, aquí las densidades son de 5,000 a 20,000 peces/ha. en estanques rurales y 4 a 15 peces/m³, en estanques artificiales.
- Cultivo intensivo: son 100% artificiales y sus condiciones de cultivo y parámetros son producidos de forma artificial por maquinas (bombas de aireación) y los parámetros se controlan por operadores. La densidad por estanque sería aproximadamente de 80 a 150 peces/m³ (CONAPESCA, 2012; Cantor-Atlantenco, 2007).

Por Tipo de estanque:

- Rural o rústico: son estanques excavados en la tierra impermeable, estos tienen su propio suministro de agua.
- Artificiales: son estanques hechos de concreto, y tanques de fibra de vidrio estos son utilizados en laboratorios e industrias.

- Jaulas o corrales: estos son puestos en una fuente natural de agua y utilizan la corriente de la propia agua para poder deshacerse de los desechos y usar los recursos naturales del agua como alimento (CONAPESCA, 2012; Cantor-Atlantenco, 2007).

Parámetros de Cultivo

Temperatura

La temperatura es un factor muy importante para el crecimiento, desarrollo y reproducción de los organismos. En el caso de las tilapias poseen un rango de tolerancia a la temperatura muy amplio, el cual se extiende de 15°C a 40°C (Montoya-Camacho, 2013; CONAPESCA, 2012; Cantor-Atlantenco, 2007), teniendo una mayor tendencia por las temperaturas más cálidas. El rango de temperatura ideal para el desarrollo es de 26 a 30°C, siendo los 28°C el más adecuado en los estanques para su máximo crecimiento (CONAPESCA, 2011, 2012; Cantor-Atlantenco, 2007). Se ha descrito que un cambio repentino de 5°C genera estrés en la tilapia, temperaturas menores a 20°C en los estanques, produce que los peces dejen de crecer y no se reproduzcan, mientras que temperaturas de 15°C provocan que los peces no se alimenten. Por otro lado, una temperatura superior a los 30°C genera un incremento en el consumo de oxígeno, generando estrés a los 38°C y al llegado a ser letal a los 42°C (Cantor-Atlantenco, 2007).

Oxígeno Disuelto

El oxígeno es el requerimiento más importante que se debe controlar en el cultivo ya que es fundamental para los procesos metabólicos de la tilapia. Los niveles de oxígeno (O₂) son directamente proporcionales a la temperatura y pH presentes en el agua e inversamente proporcional de la altitud. La tilapia necesita un mínimo de 3.0 a 4.5 mg de O₂/L para su apto crecimiento. El rango ideal de O₂ disuelto es 8 a 10 mg/L y puede soportar una concentración de hasta 1 mg/L de O₂, lo cual se debe a que su sangre tiene la facilidad de sobresaturarse aún con presión parcial baja. Por otra parte, a niveles inferiores a 3 mg/L su metabolismo se vuelve anaerobio (Cantor-Atlantenco, 2007).

Salinidad

Al ser descendiente de peces de agua salada, la tilapia tiene la facilidad de adaptarse de forma gradual al aumento de salinidad en el agua, teniendo un grado de tolerancia de 5-10 % (Cantor-Atlantenco, 2007). Los efectos de la salinidad en la tilapia se ven reflejados en enzimas digestivas, consumo de oxígeno (Sandoval-Muy *et al.*, 2012) y en la reproducción (El-Sayed, 2006). Sandoval-Muy *et al.* (2012) reportaron que al aumentar la salinidad (mayor de un 10 %) en los estanques, los peces presentaron una menor actividad enzimática principalmente en las alfa-amilasas, y que el aumento \geq al 30% de salinidad resulta ser letal.

pH

La tilapia del Nilo puede sobrevivir en aguas con un rango de pH entre 6.5 y 9. El pH del agua se puede afectar por la presencia de CO_2 , densidad del fitoplancton, alcalinidad y dureza del agua. A niveles de pH bajos (<5) los peces empiezan a tener problemas con la respiración, lo cual se debe a que el ion Fe^{+2} presente en el agua se adhiere a las branquias produciendo mortandad en un periodo de 3 a 5 h, por otro lado, un pH muy alcalino (>11) produce una mortandad casi inmediata, lo cual se debe a que el amonio que es excretado en el agua por la liberación de orina y excretas de los peces se transforma a amoniaco, el cual es altamente tóxico. Este fenómeno también se puede presentar también a pH de 8, 9 y 10 (Cantor-Atlantenco, 2007).

Amoniaco

El amoniaco es el principal metabolito liberado en la orina y las excretas de los peces. El amoniaco presente en el agua es altamente tóxico, ya que genera problemas fisiológicos en los peces, incluso la muerte. Los niveles tolerables de amoniaco por la tilapia oscilan entre 0.6 hasta 2.0 ppm en el agua, en el caso de los estanques artificiales, sin embargo, a concentraciones de 0.08 ppm se empiezan a presentar problemas en los peces como son la falta de apetito y reducción del crecimiento, en los estanques rurales. El amoniaco presente entra en equilibrio con el agua formando iones amonio e hidróxido, los cuales dependen directamente del pH del agua para no ser tóxico para los peces (Figura 2). La toxicidad del amoniaco es directamente relacionada con la temperatura, ya que a mayor

temperatura la cantidad de amoníaco es mayor. Los límites tolerables en los estanques son de 0.01 a 0.1 ppm (Cantor-Atlantenco, 2007).

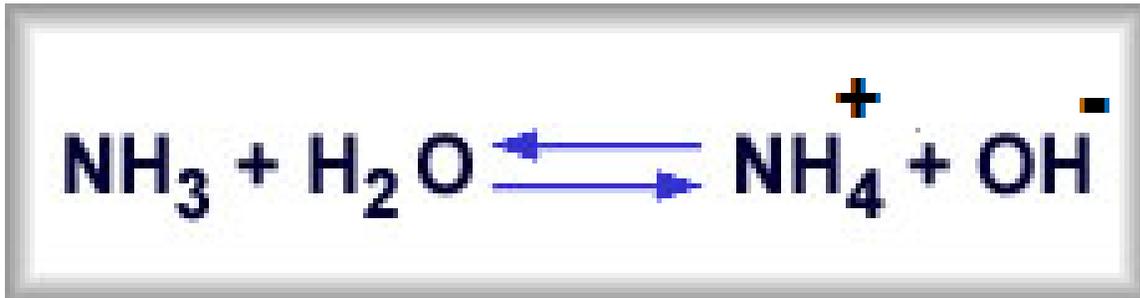


Figura 2. Equilibrio de amoníaco con agua (Adaptado de Blanco, 2005).

Nitritos y Nitratos

En los estanques la presencia del amoníaco produce la proliferación de bacterias nitrosomonas, las cuales desdoblan el amoníaco presente en el agua para obtener energía y producen nitritos en forma ácida (HNO_2). Los nitritos (NO_2^-) son menos tóxicos que el amoníaco, sin embargo, una alta presencia de estos en el agua produce problemas en los peces convirtiendo a la hemoglobina en metahemoglobina, la cual no puede transportar el oxígeno de forma correcta. Lo ideal es mantener los niveles menores a 0 mg/L, ya que cantidades de 0.1 mg/L producen los problemas anteriormente descritos e incluso dejan de comer y mueren (Cantor-Atlantenco, 2007).

A su vez, la presencia de nitritos hace que prolifere la producción de bacterias nitrobacter. Estas toman energía de los nitritos desdoblándolos hasta producir nitratos (NO_3^-). Los nitratos son compuestos menos tóxicos que los nitritos, sin embargo, su presencia tiene efectos en el desarrollo de las crías y en la reproducción en peces adultos. La presencia de estos microorganismos propicia el crecimiento de plantas en los estanques rústicos (Cantor-Atlantenco, 2007; Saubot, 2002).

Estas bacterias se encuentran en pequeñas cantidades en el agua antes de que se siembren los peces en el estanque o tanques artificiales. Por lo general, las nitrosomonas

crecen una semana después de mantener a los peces en el estanque o tanque. Posterior a esto, comienza la proliferación de nitrobacter. Los 2 tipos de bacterias nitrosomonas y nitrobacter se encuentran por lo general en las salidas de las mangueras en los tanques en donde se concentra más el oxígeno. Cantor-Atlantenco (2007) y Ulrich (2010) reportaron que la mejor forma de eliminar estas bacterias es con cambios de agua regulares e intensos.

Requerimientos Nutricionales de la Tilapia

La tilapia del Nilo utiliza a las proteínas como fuente principal de energía. Son peces omnívoros (FAO, 2016; Trovsik *et al.*, 2012; Cantor-Atlantenco, 2007) que se alimentan principalmente de fitoplancton, algas marinas unicelulares y filamentosas al igual que detritus (desperdicios) y en ciertos casos de peces pequeños, invertebrados inferiores, insectos, fertilizantes e incluso llegan al canibalismo (Cantor-Atlantenco, 2007; El-Sayed *et al.*, 2003; Cho y Jo, 2002). En el cultivo en estanques artificiales, siembras semi-intensivas o intensivas los peces se alimentan con alimentos elaborados con harinas de cereales o semillas como las de girasol y algodón. Maina *et al.* (2002) consideraron a las tilapias del Nilo como organismos herbívoros con una alta capacidad para utilizar o digerir la fibra presente en la dieta como fuente de energía, lo cual se atribuye a su intestino. Los peces herbívoros poseen una mayor capacidad para digerir fibras y utilizar las proteínas de las plantas debido a una mayor cantidad de amilasas en el intestino largo, así como una menor producción de pepsina y tripsina en su sistema. En cambio, los peces carnívoros poseen una mayor cantidad de tripsina y pepsina que amilasa en los intestinos más cortos.

La tilapia del Nilo tiene diferentes necesidades proteicas según su etapa de desarrollo (Tabla 1) (Cantor-Atlantenco, 2007; El-Sayed *et al.*, 2003; Cho y Jo, 2002). Los aminoácidos esenciales para el óptimo desarrollo son: arginina, valina, histidina, metionina, fenilalanina, triptófano, treonina, lisina, leucina e isoleucina (FAO, 2016). Por otra parte, las necesidades lipídicas de la tilapia se encuentran entre un 10 y 15 %, siendo los ácidos grasos omegas 6 los más requeridos (ácido linoleico y el ácido araquidónico), mientras que de carbohidratos requiere hasta un 40 %. Por último, las vitaminas y minerales se necesitan en menos de 2 % cada uno (FAO, 2016; Cantor-Atlantenco, 2007).

Tabla 1. Porcentaje de requerimiento proteico de la tilapia del Nilo según etapa de desarrollo

Etapa	Peso (g)	Requerimiento proteico en la dieta (%)
Larva		45.0 - 50.0
Cría	0.2 - 1.0	40.0
Alevín	1.0 - 10.0	35.0 - 40.0
Juvenil	10.0 - 25.0	30.0 - 32.0
Adulta	25.0 - 200.0	30.0 - 32.0
Reproductora		40.0 - 45.0

Proteínas de Origen Animal

Cuando hablamos de acuicultura tenemos que referirnos a la harina de pescado como la principal fuente de proteína de origen animal para la alimentación de los peces, debido a su alta palatabilidad, alto balance de aminoácidos y ácidos grasos esenciales, alto porcentaje en proteína 64-68 % y una alta digestibilidad (FAO, 2016; Ayaid *et al.*, 2012; Bauer *et al.*, 2012; Burr *et al.*, 2012; Trovsik *et al.*, 2012; IFFO, 2006).

La harina de pescado es un subproducto de la producción de aceite de pescado, sin embargo, debido a su gran valor proteico, palatabilidad y alto balance de nutrientes esenciales, ganó popularidad en los años 50's como un ingrediente para la elaboración de alimento para cerdos (Ayaid *et al.*, 2012). En la actualidad, la harina de pescado se utiliza como ingrediente principal en el alimento para peces de acuicultura, lo cual se debe a las características anteriormente mencionadas (Ayaid *et al.*, 2012; Bauer *et al.*, 2012; Cruz-Suárez *et al.*, 2007; Boonyaratpalin 1998). Bauer *et al.* (2012) reportaron que el 68.2% de harina de pescado producida a nivel mundial se destina a la acuicultura.

Los precios de la harina de pescado y los alimentos producidos a partir de ella han aumentado de forma exponencial. Esto se debe al aumento de la producción acuícola, lo cual a su vez ha conllevado una alta demanda de harina de pescado y a que la producción de esta harina no ha aumentado de forma significativa en los últimos años. La alimentación de los organismos representa desde un 50 a un 70 % de inversión en la acuicultura. Por consiguiente, es necesario buscar alternativas de fuente de proteína de bajo costo con la finalidad de poder obtener una producción más sustentable (Ayaid *et al.*, 2012).

Proteínas de Origen Vegetal

Diversas alternativas se han considerado para el reemplazo de proteína de origen animal, entre éstas se encuentran los subproductos agrícolas o la utilización de frutas de temporada (Delgado-Vidal *et al.*, 2009). Por otro lado, la utilización de proteínas de origen vegetal representa una alternativa viable para sustituir a la proteína de origen animal (Ayaid *et al.*, 2012). Sin embargo, éstas presentan desventajas como ausencia de aminoácidos esenciales (principalmente metionina, histidina y cisteína) y factores antinutricionales, los cuales traen como consecuencia efectos en el crecimiento y poca eficiencia alimenticia y proteica (Ayaid *et al.*, 2012). Estas desventajas pueden solucionarse con tratamiento térmico para eliminar los factores antinutricionales, sin embargo, si no se aplica correctamente el tratamiento térmico se produce una desnaturalización de proteínas y eliminación de lisina (Ayaid *et al.*, 2012). Diversos estudios señalan a la soya como la principal fuente de proteína para producir alimentos para peces, seguidos por las semillas de algodón, de girasol, maíz y trigo (Bauer *et al.*, 2012; Bulbul *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2009; Elangovan y Shim, 2000; El-Sayed *et al.*, 1999). De acuerdo con Burr *et al.* (2012), la adición o sustitución de proteína de origen vegetal en el alimento depende principalmente de la selección adecuada de los ingredientes o fuentes de origen vegetal. Diversos investigadores recomiendan la suplementación de metionina y lisina en las dietas para poder compensar la ausencia de aminoácidos (Aguiar *et al.*, 2005).

La harina de soya es la más estudiada en acuicultura debido a su alto valor nutricional, buen perfil de aminoácidos y precio razonable a comparación con la harina de pescado. Sin embargo, factores como bajos niveles de histidina y metionina, así como la presencia de factores antinutricionales específicamente inhibidores de proteasa (tripsina), antivitaminas

y alergénicos, deben de ser considerados para la formulación del alimento para peces (Kader *et al.*, 2010; El-Sayed, 1999).

Las semillas de algodón son otra fuente muy estudiada para producir harina, lo cual se debe a su gran valor proteico (33.4-44.7 %) y un buen perfil de aminoácidos. Debido a que esta fuente vegetal presenta una baja cantidad de cisteína, lisina y metionina es recomendable la suplementación de estos aminoácidos en forma cristalizada. Además de lo anterior, el principal problema que se enfrenta cuando se utiliza las semillas de algodón es la presencia del pigmento gossypol, el cual es altamente tóxico (Ayaid *et al.*, 2012). El-Saidy y Gaber (2002) recomiendan para eliminar hasta un 33% de gossypol, un tratamiento con hierro al 1 % en las semillas, además de la adicción de lisina y metionina para la formulación de alimento para *O. niloticus*.

La harina de maíz es una fuente de origen vegetal muy estudiada, esto se debe a que posee una gran cantidad de proteína (66.7-74.7 %), es baja en fibra (0.8-2.4 %) y tiene altos valores de vitaminas B y E. Además de poseer menos factores antinutricionales en comparación con las otras harinas de origen vegetal como la soya. La harina de maíz tiene bajos niveles de lisina (1.0-2.1 %) y metionina (0.9-1.8 %) (Regost *et al.*, 1999).

La harina de sorgo posee la misma cantidad de proteínas que otros cereales, sin embargo, es considerada proteína de baja calidad, principalmente por tener de 35 a 90 % menos lisina que otros cereales. Al igual que otros granos y alimentos de origen vegetal, este posee diversos factores antinutricionales, como inhibidores de proteasas, inhibidores de amilasa, cianógeno, ácido fítico, taninos y tendencia a contaminarse con aflatoxinas (Taylor y Taylor, 2011; Tacón, 1989). Montoya-Mejía (2012) recomienda combinar la harina de sorgo con otras fuentes proteicas. Por lo anterior es necesario mencionar que la principal función de la harina de sorgo es servir como fuente de carbohidratos en las dietas.

El reemplazo de la harina de pescado con una mezcla compleja de proteínas de origen vegetal puede reducir la exposición a los factores antinutricionales individuales y mejorar el aprovechamiento (Olvera-Novoa *et al.*, 1990). Rodehutschord *et al.* (1995), describieron que la harina de pescado podía sustituirse por completo con una mezcla de gluten de trigo y aminoácidos cristalizados sin tener efectos negativos en el crecimiento en truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). De acuerdo con Burr *et al.* (2012) la sustitución de proteína de origen vegetal en el alimento depende principalmente de la selección adecuada de mezclas de ingredientes de origen vegetal.

Fisiología de la tilapia

Los peces en la naturaleza están sujetos a cambios considerables tanto en su entorno o medio ambiente, como a la disponibilidad de alimento (Álvarez-Trujillo, 2012), lo cual modifica la condición fisiológica de los organismos y podría impactar en la calidad final del producto obtenido. A continuación, se describen algunos aspectos fisiológicos que afectan a la calidad de los productos de la pesca.

Obtención de Energía

En el músculo de los organismos vivos, el ATP (adenosín-5'-trifosfato) es el nucleótido más abundante, el cual se genera durante la glucólisis, así como en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos y la cadena de transporte de electrones en la mitocondria (Lehninger *et al.*, 2008). Para éstas dos últimas vías, es necesaria la presencia de oxígeno, el cual no se suministra cuando el organismo muere, por lo que la generación de energía aeróbica se detiene (Huss, 1999). Bajo estas condiciones, la mayor parte del ATP *posmortem* se genera por la glucólisis anaerobia, la cual es un proceso sumamente ineficiente para la producción neta de energía (2 ATP) en comparación a la glucólisis aerobia (36 ATP) (Mathews *et al.*, 2002).

En la Figura 3 se presentan las principales rutas para la obtención de energía anaeróbica *posmortem* en organismos acuáticos y los metabolitos relacionados. En las etapas iniciales *posmortem* se puede obtener energía rápidamente a través de la utilización de fosfágenos, que en vertebrados es la creatina fosfato (Lehninger *et al.*, 2008). La reacción consiste en regenerar ATP por transferencia del grupo fosfato del fosfágeno al ADP por acción de la enzima creatina quinasa, liberando creatina en el proceso (Lehninger *et al.*, 2008; Wongso *et al.*, 1998).

Por otro lado, se conoce que cuando los organismos acuáticos se encuentran bajo condiciones de requerimientos de energía, ésta la obtienen a través de rutas aeróbicas o anaeróbicas utilizando el glucógeno almacenado en su músculo (Lehninger *et al.*, 2008). Como se puede observar en la misma Figura 3, bajo condiciones anaeróbicas cuando se produce energía (ATP) a partir del glucógeno almacenado en el músculo, también se obtiene piruvato como producto intermedio. Bajo estas condiciones el piruvato se convierte a ácido láctico por acción de la enzima lactato deshidrogenasa (Lehninger *et al.*, 2008).

En el músculo de organismos acuáticos la degradación del ATP en condiciones *posmortem* se presenta en dos etapas, la primera consiste en la transformación rápida de este metabolito hasta adenosín difosfato (ADP), adenosín monofosfato (AMP) y posteriormente, hasta inosina monofosfato (IMP), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx), por acción de enzimas endógenas. La segunda etapa se lleva a cabo más lentamente, se observa una oxidación de la Hx hasta xantina y después hasta ácido úrico, por enzimas bacterianas durante la etapa de *posrigor* (Ashie *et al.*, 1996; Surette *et al.*, 1988).

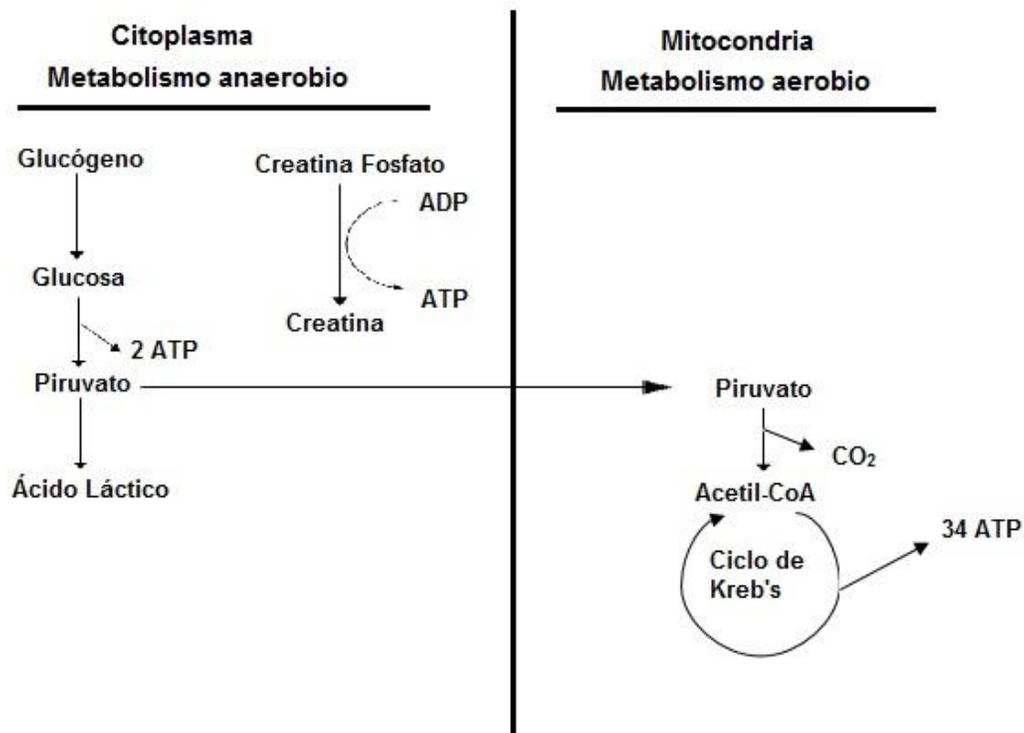


Figura 3. Principales metabolitos relacionados con la obtención de energía aeróbica y anaeróbica en organismos acuáticos (Adaptada de Montoya-Camacho, 2013).

Disminución de pH

En el tejido muscular bajo condiciones anaeróbicas *posmortem*, tanto la velocidad como el grado de descenso del pH se debe a la acumulación y disociación de ácido láctico. Lo anterior está en función del contenido de glucógeno en el músculo (Forrest *et al.*, 1975), así como de la especie (Pearson y Young, 1989) y de la liberación de los fosfatos inorgánicos y amoníaco provenientes de la degradación de ATP y proteínas (Sikorski *et al.*, 1990).

Una vez que el organismo ha muerto los valores de pH descienden, por lo tanto, se ven afectadas las propiedades físicas y tecnológicas del músculo (Ashie *et al.*, 1996), causando una pérdida de textura en el músculo y una reducción de la capacidad de retención de agua, entre otras. El pH *posmortem* del músculo desciende rápidamente, lo que provoca una exudación de líquido y genera un aspecto acuoso sobre la superficie. De igual forma, disminuye y se ve afectada la frescura de los productos marinos, debido a que se acelera la degradación de IMP por fosfomonoesterasas ácidas cuyo pH de acción es de 6.0 (Haard, 1992). En consecuencia, se genera la producción de Hx, esta contribuye a la pérdida progresiva de la calidad, ya que su acumulación en el músculo de pescado refleja la fase inicial de la degradación autolítica, así como también el subsecuente deterioro bacteriano. Posteriormente, con la resolución del *rigor mortis*, la actividad bacteriana produce un incremento gradual de pH, debido a la producción de amoníaco y de otros compuestos básicos (Günşen *et al.*, 2011). En resumen, primeramente, el pH muscular disminuye durante el inicio del *rigor mortis* y posteriormente, se incrementa progresivamente como resultado de la actividad microbiana (Ocaño-Higuera, 2003).

HIPÓTESIS

El nivel de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal en el alimento modificará la condición fisiología de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), así como en el desarrollo, crecimiento y composición química del músculo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del nivel de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal en el alimento sobre la condición fisiológica de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Objetivos Específicos

1. Elaborar alimentos con distintos niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal (alimentos con 0% de sustitución (D₀), 50% de sustitución (D₅₀) y 100% de sustitución (D₁₀₀)).
2. Determinar la composición proximal de los alimentos experimentales y compararlos con un alimento comercial (D_C).
3. Evaluar la calidad del agua de los tanques de los diferentes tratamientos y alimento control (comercial) durante el bioensayo.
4. Determinar el impacto de la ingesta de los alimentos experimentales (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) y control (alimento comercial), sobre los parámetros biológicos (desarrollo y crecimiento) en la tilapia del Nilo.
5. Determinar el impacto fisiológico de los alimentos experimentales (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) y control (alimento comercial) en la tilapia del Nilo.
6. Determinar el impacto en la composición química proximal de los alimentos experimentales (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) y control (alimento comercial) en el músculo de tilapia del Nilo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se dividió en cuatro etapas. En la primera etapa se formularon los alimentos con el software Nutrion PRO 5, posteriormente se procesaron utilizando un extrusor y se comparó la composición química proximal de los alimentos con un alimento comercial. En la segunda etapa, se evaluó el efecto de la sustitución de proteína de origen animal en el alimento por proteínas de origen vegetal (soya, trigo, maíz y sorgo), sobre el desarrollo biológico y el crecimiento de los organismos. En la tercera etapa, se evaluó el efecto de la sustitución de proteína de origen animal en el alimento por proteína de origen vegetal sobre los cambios fisiológicos. En la cuarta etapa, se evaluó el efecto de la sustitución de proteína de origen animal en el alimento por proteínas de origen vegetal sobre la composición química proximal del músculo de pescado. A continuación, se describen los materiales y métodos que se emplearon la investigación.

Manejo de los Organismos

Se obtuvieron organismos adultos de tilapia del Nilo (*Oreochromus niloticus*), con talla y peso promedio de 18.8 ± 0.3 cm y 123 ± 6.3 g, respectivamente, del Laboratorio CriLab “La Victoria” en Hermosillo, Sonora. Posteriormente, fueron transportados en tanques de fibra de vidrio (250 L) durante 40 minutos en un carro tipo Pickup hasta el Laboratorio Húmedo del Departamento de Investigaciones Científica y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS). Finalmente, se procedió a transferir los organismos al sistema experimental.

Condiciones y Desarrollo del Sistema Experimental

El sistema experimental estuvo constituido por 16 tanques de 250 L de capacidad cada uno, los cuales se llenaron con 230 L de agua dulce y fueron suministrados con aireación constante. Además, se realizó un recambio diario aproximado del 90 % del volumen de agua del sistema. Los organismos se distribuyeron aleatoriamente a razón de 10 organismos por tanque, equivalentes a una densidad de siembra de 67 tilapias/m³. El bioensayo se realizó por 60 días y se utilizaron cuatro tanques por tratamiento. Durante el bioensayo se mantuvieron controladas las siguientes condiciones en los tanques:

temperatura de $26.7 \pm 0.39^{\circ}\text{C}$, oxígeno disuelto 5.2 ± 0.75 mg/mL y pH del agua de 7.9 ± 0.15 .

Todos los organismos fueron alimentados durante 10 días con un alimento balanceado comercial con 38 % de proteína (Ziwler®) para su aclimatación y posteriormente, fueron alimentados durante 60 días con los alimentos experimentales. La tasa de alimentación diaria fue de 2.5 % del peso corporal húmedo, suministrando el alimento en tres raciones diarias (09:00, 13:00 y 17:00 h). Diariamente, los tanques fueron sifoneados con una manguera para eliminar excretas y residuos de alimento (González-Félix *et al.*, 2010). Asimismo, se monitoreó la calidad el agua del sistema experimental, midiendo diariamente la temperatura, pH y oxígeno disuelto, mientras que el contenido de amoníaco, nitratos y nitritos presentes en el agua se determinó cada 15 días. Inmediatamente después, se tomaron 6 organismos al azar por tratamiento para la determinación de la condición fisiológica.

Una vez transcurrido el tiempo del bioensayo, todos los organismos fueron sacrificados por choque térmico empleando agua y hielo molido. Inmediatamente después fueron fileteados manualmente y cada filete obtenido se empacó en bolsas de polietileno y se congeló a -80°C en un ultracongelador Marca New Brunswick Scientific. Posteriormente, los filetes congelados se transportaron al Laboratorio de Investigación en Alimentos (LIA) del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora y permanecieron congelados hasta el momento de su utilización.

El estudio se realizó en 4 etapas las cuales se describen a continuación:

Etapas 1. Formulación, Elaboración y Análisis Químico Proximal de los Alimentos Experimentales

Se formularon y elaboraron tres alimentos experimentales isoprotéicos e isoenergéticos con 37 % de proteína total. Se incluyó la harina de pescado en 20, 10 y 0 % en los alimentos, sustituyéndola con proteínas de origen vegetal en 0, 50 y 100%, respectivamente (Tabla 2). De igual forma, se utilizó un alimento comercial (Ziwler®) con 38 % de proteína que fungió como control. Los alimentos experimentales se formularon utilizando el software Nutrion 5 PRO®. Los alimentos fueron elaborados en el Laboratorio de Molinos del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) de la

Universidad de Sonora. Para ello, primeramente, se molieron finamente los ingredientes sólidos en un molino Cyclotec, se cernieron en un tamiz de 500 μm y se mezclaron por 10 minutos en una mezcladora Kitchenaid®. Seguido de esto, se adicionaron los ingredientes secos y una emulsión de aceite-lecitina de soya. Posteriormente, se adicionaron 500 mL de agua para alcanzar un 18% de humedad y la pasta resultante se pasó a través de un extrusor Brabender (Modelo E 19/25 D, Instruments Inc, South Hackensack, NJ U.S.A) con un tornillo # 3, las temperaturas empleadas fueron de 80-95-125-140°C. Se obtuvieron los pellets de 3.4 mm de diámetro y con aproximadamente 8 % de humedad. Finalmente, los pellets se cortaron manualmente para posteriormente ser almacenados en bolsas de polietileno (Ziploc®) hasta su uso.

Análisis Químico Proximal de los Alimentos Experimentales

El análisis de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda de los alimentos experimentales se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos del Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Donde se emplearon los métodos oficiales 930.15, 942.05, 976.05, 2003.05 y 978.10, respectivamente, recomendados por la AOAC (2012). Se utilizó una $n=3$ para cada determinación.

Etapa 2. Efecto de la Sustitución de Proteínas de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal, sobre el Desarrollo Biológico y el Crecimiento de los Organismos

Determinación de los Parámetros Biológicos y de Crecimiento

Los principales parámetros biológicos que se midieron durante el desarrollo del cultivo de tilapia fueron la supervivencia e índices de crecimiento como el peso inicial, peso final, peso ganado (expresado como % del peso inicial), tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa relativa de crecimiento (TRC) (González-Félix *et al.*, 2010).

$$\text{Supervivencia (\%)} = \frac{\text{No. de organismos final}}{\text{No. de organismos inicio}} \times 100$$

$$\text{TCE (\%/día)} = 100 * ((\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{días de tratamiento})$$

ln: logaritmo natural

$$\text{FCA} = \frac{\text{Alimento total consumido (g)}}{\text{Incremento en peso corregido (g)}}$$

Incremento en peso corregido (IPC) =

$$\text{Biomasa final} + \left[\frac{\text{Peso promedio final} + \text{Peso promedio inicial}}{2} \times \text{No. de muertos} \right] - \text{Biomasa inicial}$$

$$\text{TRC (\%)} = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}}{\text{Peso inicial (g)}}$$

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

Se realizaron las determinaciones de los parámetros cada quince días empleando una n=10.

Tabla 2. Formulación de los alimentos experimentales

Tratamientos	D₁₀₀	D₅₀	D₀
Inclusión Harina de Pescado (%)	0	10	20
Sustitución de Harina de Pescado (%)	100	50	0
Ingredientes (g/Kg)			
Harina de sardina ²	0.0	100.0	200.0
Pasta de soya ¹	725.0	549.8	373.9
Harina de maíz ¹	150.0	114.5	150.0
Harina de trigo ¹	50.0	150.0	150.0
Harina de sorgo ¹	5.0	10.0	51.5
Aceite de sardina ²	38.9	44.6	43.5
Lecitina de soya ³	10.0	10.0	10.0
Premezcla de vitaminas ⁴	8.0	8.0	8.0
Premezcla de minerales ⁵	5.0	5.0	5.0
Fosfato de sodio dibásico ⁶	5.0	5.0	5.0
Cloruro de colina ¹	2.0	2.0	2.0
Vitamina C ⁷	1.0	1.0	1.0
BHT ⁸	0.1	0.1	0.1
Total	1000.0	1000.0	1000.0

- Promotora Industrial Acuasistemas, S.A. de C. V., La Paz, BCS, México.
- Pescaharina de Guaymas S.A de C.V.
- ODONAJI. Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales S.A. de C.V., México, D.F.
- Composición de la premezcla de vitaminas (g/kg premezcla): Vit. A 5, D₃ 0.001, E 8, menadiona 2, B₁ 0.5, B₂ 3, B₆ 1, DL-Ca- Pantotenato 5, ácido nicotínico, H 0.05 inositol 5, B₁₂ 0.002, ácido fólico 0.18, α -celulosa 865.266.
- Composición de la premezcla minerales (g/100 g premezcla): CoCl₂ 0.004, CuSO₄. 5H₂O 0.25, FeSO₄. 7H₂O 4, MgSO₄. 7H₂O 28.398, MnSO₄. H₂O 0.65, KI 0.067, Na₂SeO₃ 0.01, ZnSO₄ ·7H₂O 13.193, α-celulosa 53.428.
- SIGMA Cat No. S-0876. SIGMA–ALDRICH Chemical Company, St. Louis, MO, USA.
- Stay C (35% agente activo). Roche, México, D.F.
- Hidroxitolueno butilado, ICN Cat. No.101162. Aurora, Ohio, USA.
- Valores son medias de tres repeticiones ± DS.

Determinación de los Parámetros de Calidad del Agua del Sistema Experimental

En el agua de los tanques reservorios del sistema experimental, diariamente se monitorearon la temperatura y el pH utilizando un potenciómetro Hanna Modelo HI 98127, el oxígeno disuelto con un oxímetro Ysi, (Modelo 85, Yellow Spring, Ohio) (González-Félix *et al.*, 2010). El amoníaco, nitratos y nitritos se midieron cada quince días de acuerdo con la metodología descrita por Solórzano (1969). Las muestras de agua fueron sometidas a una reacción colorimétrica utilizando un kit comercial HANNA Instruments, (Modelo HI 38049) y se hicieron lecturas en un espectrofotómetro a 640 nm.

Etapa 3. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal sobre los Cambios Fisiológicos

Cuantificación del ATP

En el músculo vivo, el ATP es el nucleótido predominante (Sikorski *et al.*, 1990). Este metabolito disminuye rápidamente dentro de las primeras 24 horas *posmortem*, en donde la velocidad y el grado de degradación están en función de la especie, tipo de músculo y el estado de estrés que presente el organismo (Sikorski *et al.*, 1990). La identificación y cuantificación del ATP se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de acuerdo a la metodología descrita por Ryder (1985), con un extracto de músculo de tilapia. El extracto se obtuvo homogeneizando 2 g de músculo con 15 mL de ácido perclórico (0.6 M) a 0°C, en un homogeneizador Laboratory Equipment Manufacturer (Modelo HOG-020) a 18,000 rpm durante 1 minuto. El homogeneizado se centrifugó por 10 minutos a 8,000 x g a 0°C en una centrífuga refrigerada Thermo Scientific (Modelo Sorvall Lynx 4000 Label 2). Posteriormente, se tomó una alícuota de 7 mL del sobrenadante, se neutralizó a un pH de 6.5-6.8 con KOH (1 M), se dejó reposar por 30 minutos a 0°C. Inmediatamente, el perclorato de potasio se removió por filtración con papel Whatman No. 4. El sobrenadante se diluyó a 15 mL con agua destilada y las muestras se almacenaron a -80°C en un ultracongelador Thermo Scientific hasta su utilización.

Para la separación y cuantificación del ATP se tomaron 20 µL del sobrenadante neutralizado y diluido, los cuales se inyectaron en un cromatógrafo Agilent Technologies (Modelo 260 Infinity Series), en una columna Agilent de fase reversa C18 Ultrasphere ODS de 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de largo (Beckman Instruments, Inc. Fullerton,

CA). La fase móvil consistió de un buffer de fosfatos compuesto de KH_2PO_4 (0.04 M) y K_2HPO_4 (0.06 M). El flujo utilizado fue de 1 mL/min. El compuesto se detectó a 254 nm con un detector ultravioleta Agilent Technologies. El equipo se calibró inyectando 20 μL de una solución 0.166 M del compuesto de referencia. Se utilizó una $n=6$ para cada tratamiento y los resultados se expresaron como $\mu\text{mol/g}$ de muestra.

Carga Energética Adenilada (CEA)

La determinación de la CEA del filete de la tilapia se llevó a cabo de acuerdo a la ecuación de Maguire *et al.* (1999):

$$\text{CEA} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

La extracción, identificación y cuantificación de ATP, ADP y AMP se realizó según la metodología descrita por Ryder (1985), como se describe anteriormente (ver cuantificación de ATP).

Cuantificación del Glucógeno

La principal fuente energética para mantener el nivel fisiológico de ATP en el tejido muscular es la degradación del glucógeno almacenado (Huss, 1999). La cuantificación del glucógeno en el músculo se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (2003). Esta consiste en homogeneizar 2 g de músculo con 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) (10%) frío durante un minuto en un homogeneizador Laboratory Equipment Manufacturer (Modelo HOG-020) a una velocidad de 22,000 rpm. El homogeneizado se centrifugó durante 15 minutos a 8,000 x g a -2 °C en una centrifuga refrigerada Thermo Scientific (Modelo Sorvall Lynx 4000 Label 2, Alemania). Se tomó una alícuota de 0.1 mL del sobrenadante y esta se colocó en tubos eppendorf de 1.5 mL y se le agregó 1 mL de etanol frío al 95 % para precipitar el glucógeno. Posteriormente, el tubo eppendorf se agitó con un vortex Scientific Industries (Vortex-Genie 2 Modelo 0-560), para

después centrifugarse de nuevo bajo las condiciones anteriormente descritas. Finalmente, el sobrenadante se decantó y los tubos con el glucógeno se secaron en vacío a 60 °C durante 30 minutos.

El precipitado (glucógeno) se resuspendió en 0.1 mL de agua destilada con agitación en un vortex Scientific Industries (Vortex-Genie 2 Modelo 0-560). Posteriormente, se le adicionó 1 mL del reactivo de antrona (0.1% de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76 %) para después incubarse durante 5 minutos a 90°C en un baño María Fisher (Science Isotemp 205 Modelo 205). Inmediatamente los viales se enfriaron en agua fría (agua + hielo) para detener la reacción. Se midió absorbancia a 620 nm contra un blanco en un espectrofotómetro Agilent Technologies (Cary 60 Uv-Vis Modelo G6860A). Se utilizó una n=6 para cada tratamiento y los resultados se reportaron como mg de glucógeno por g de músculo.

Contenido de Carbohidratos Totales

La cuantificación del contenido de carbohidratos totales se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (2003). Esta metodología consistió en homogeneizar en un homogeneizador Laboratory Equipment Manufacturer (Modelo HOG-020), 1 g de músculo con 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) frío al 10 % durante 1 minuto a una velocidad de 22,000 rpm. El homogeneizado se centrifugó en una centrifuga refrigerada Thermo Scientific (Modelo Sorvall Lynx 4000 Label 2, Alemania) a 3000 x g y 0°C durante 15 minutos. Se tomaron alícuotas de 0.1 mL del sobrenadante y se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 mL, a los que se les adicionó 1 mL del reactivo de antrona (0.1% de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76%) para después se sumergieron durante 5 minutos a 90°C en baño María Fisher (Science Isotemp 205 Modelo 205). Inmediatamente después del calentamiento, los viales se enfriaron en agua fría (agua + hielo) para detener la reacción. Se midió absorbancia a 620 nm contra un blanco en un espectrofotómetro Agilent Technologies (Cary 60 Uv-Vis Modelo G6860A). Se utilizó una n=6 para cada tratamiento y los resultados se reportaron como mg de glucosa/g de músculo.

Determinación del pH

La determinación de pH se llevó a cabo por la metodología descrita por Woyewoda *et al.* (1986), para ello se realizó un homogeneizado del músculo con agua destilada y se midió el pH empleando un potenciómetro Thermo Electron Co. Orion 420 A, calibrado con soluciones comerciales de referencia. Se utilizó una n=6 para cada tratamiento.

Etapas 4. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal por Proteína de Origen Vegetal, sobre la Composición Química Proximal en el Músculo.

Análisis Químico Proximal del Músculo de los Organismos Experimentales

Para realizar el análisis de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda del músculo de los organismos experimentales, se emplearon los métodos oficiales 952.08, 938.08, 940.25, 248.16 y 978.10, respectivamente, recomendados por la AOAC (2012) en el Laboratorio de Análisis de Alimentos del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora. Se utilizó una n=3 para cada determinación.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El presente estudio se dividió en dos etapas, en la primera se evaluó el efecto de la sustitución de proteínas de origen animal en el alimento por proteínas de origen vegetal, sobre los cambios en el desarrollo biológico de los organismos, los cuales comprendieron las determinaciones de supervivencia e índices de crecimiento como el peso inicial, peso final, peso ganado, tasa de crecimiento específico (TCE) y factor de conversión alimenticia (FCA). También se realizó un análisis químico proximal a los alimentos experimentales. Para analizar los datos obtenidos en esta etapa, se aplicó un análisis de varianza y los resultados obtenidos se analizaron como medias repetidas por tiempo utilizando un nivel de significancia de 0.05 en el error. Para ello, se empleó un diseño experimental completamente al azar de una sola vía, teniendo como variable el porcentaje de sustitución de proteínas de origen vegetal en tres niveles (0, 50 y 100 %).

Para la segunda etapa, se evaluó el efecto de sustitución de proteínas de origen animal en el alimento por proteínas de origen vegetal, sobre los cambios en la fisiología muscular, los cuales comprendieron las determinaciones del ATP, CEA, glucógeno, carbohidratos totales

y pH. También se realizó en el músculo de los organismos experimentales análisis químico proximal. Para analizar los datos obtenidos en esta etapa, se aplicó un análisis de varianza y los resultados obtenidos se analizaron como medias repetidas por tratamiento, utilizando un nivel de significancia de 0.05 en el error. Para ello, se empleó un diseño experimental completamente al azar de una sola vía, teniendo como variables el porcentaje de sustitución de proteínas de origen vegetal en tres niveles (0, 50 y 100 %). Se utilizó una n=6 por cada determinación. Todos los datos fueron procesados en un paquete estadístico NCSS (NCSS, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación, los cuales se describen y discuten en cuatro etapas. La primera etapa presenta los resultados del análisis proximal de los alimentos experimentales elaborados y el control. La segunda etapa aborda el efecto de los alimentos experimental y control sobre los parámetros de crecimiento y desarrollo de las tilapias. La tercera etapa presenta los resultados obtenidos de los aspectos fisiológicos evaluados en el bioensayo y por último, se muestra el efecto de los diferentes alimentos experimentales y control en la composición proximal del músculo de tilapia.

Etapas 1. Formulación, Elaboración y Análisis Químico Proximal de los Alimentos Experimentales.

En la Tabla 3 se presenta la composición proximal de los 3 alimentos experimentales (D_0 , D_{50} D_{100}) y el control (D_C). En ella, se puede apreciar que no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en el contenido de humedad y proteína entre los tratamientos, mientras que si hubo un efecto significativo ($P \leq 0.05$) en el contenido de grasa cruda, cenizas, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (ELN). En el caso de la grasa cruda, la D_C (4.6 ± 0.1) fue significativamente ($P \leq 0.05$) menor que los 3 alimentos experimentales (6.2 ± 0.1 %), lo cual se debió a que en la formulación de las dietas experimentales se incorporó directamente aceite comercial de sardina.

En el caso del contenido de cenizas se encontró que la D_C presentó un valor de 8.8 ± 0.0 %, el cual es mayor que el 5.6 ± 0.1 % obtenido para D_0 , D_{50} y D_{100} . Esta diferencia se puede deber a que D_C presenta un mayor contenido de harina de pescado, la cual es rica en minerales como el calcio que incrementan el porcentaje de minerales entre 12 y 16 % (IFFO, 2006).

Con respecto a fibra cruda y ELN los porcentajes obtenidos en la D_C (4.5 ± 0.1 y 35.3 ± 0.9 , respectivamente) fueron diferentes y menores que D_0 , D_{50} y D_{100} , en donde se obtuvieron valores entre 36.8 y 37.0%. Esto se debe específicamente a que las fuentes de proteína de origen vegetal utilizadas en la elaboración de los alimentos experimentales fueron harinas vegetales, las cuales tienen una gran cantidad de almidón y fibra cruda.

Tabla 3. Composición química proximal de los alimentos experimentales elaborados (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) y alimento control (D_C).

	D _C	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
Humedad (%)	8.8 ± 0.7 ^a	8.9 ± 0.2 ^a	8.8 ± 0.4 ^a	8.8 ± 0.6 ^a
Proteína Cruda (%)	38.0 ± 0.2 ^a	37.6 ± 0.2 ^a	37.6 ± 0.2 ^a	37.6 ± 0.2 ^a
Grasa Crudos (%)	4.6 ± 0.1 ^a	6.2 ± 0.0 ^b	6.2 ± 0.0 ^b	6.2 ± 0.1 ^b
Cenizas (%)	8.8 ± 0.0 ^a	5.6 ± 0.1 ^b	5.6 ± 0.0 ^b	5.6 ± 0.1 ^b
Fibra Cruda (%)	4.5 ± 0.1 ^a	4.8 ± 0.1 ^b	4.8 ± 0.1 ^b	4.6 ± 0.1 ^b
ELN (%)	35.3 ± 0.9 ^a	36.8 ± 0.5 ^b	36.8 ± 0.4 ^b	37.0 ± 0.4 ^b

Los valores representan el porcentaje promedio de n= 3 ± desviación estándar de materia seca. D_C = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50 % de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05). ELN = Extracto libre de nitrógeno.

Etapas 2. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteínas de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal, sobre el Desarrollo Biológico y el Crecimiento de los Organismos.

Determinación de la calidad del agua durante el bioensayo

Durante el desarrollo del bioensayo, se midieron varios parámetros para evaluar la calidad del agua de los diferentes tanques. En la Tabla 4 se presentan los valores promedio y mínimos y máximos obtenidos para oxígeno disuelto, pH, temperatura, amoníaco, nitritos y nitratos en el agua.

Tabla 4. Determinación de los parámetros de calidad del agua del sistema experimental.

Parámetros	Promedio	Mínimo	Máximo
Oxígeno disuelto (mg/L)	5.20±0.74	3.03	7.10
pH	7.90±0.15	7.50	8.30
Temperatura (°C)	26.70±0.39	26.10	27.70
Amoniaco (mg/L)	0.91±0.20	0.92	1.09
Nitritos (mg/L)	0.05±0.00	0.06	0.03
Nitratos (mg/L)	1.17±0.20	0.90	1.44

Los valores representan la media \pm desviación estándar de los 4 tanques por tratamiento.

Saavedra-Martínez (2006) indicó que la calidad del agua está determinada por sus propiedades físico-químicas y que entre las más importantes destacan: temperatura, oxígeno y pH. Asimismo, indicó que los parámetros del agua donde se cultivan los peces deben mantenerse dentro de los rangos óptimos para el buen desarrollo y crecimiento de la tilapia. Los rangos óptimos para los parámetros evaluados son: oxígeno disuelto (5.0 - 9.0 mg/L), pH de 6.0 - 9.0, temperatura de 25.0 - 32.0 °C, amoniaco (0.1 mg/L), nitritos (0.1 mg/L) y nitratos (1.5 - 2.0 mg/L). Por lo tanto, se considera que, en el presente estudio, los parámetros ambientales y de recambio de agua fueron controlados con éxito y permitieron el buen desarrollo y crecimiento de las tilapias en los tanques durante el bioensayo.

En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos de los parámetros biológicos y de crecimiento de las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales y control. En ella, se puede observar que las tilapias presentaron un peso final de 213.0 y 233.5 g y una talla de 22.4 y 22.6 cm de largo, respectivamente.

Tabla 5. Parámetros biológicos y de crecimiento de las tilapias (*O. niloticus*) alimentadas con los diferentes niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control.

Parámetros	D _c	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
Peso Inicial (g)	116.7 ± 3.7 ^a	118.6 ± 8.2 ^a	127.4 ± 14.6 ^a	129.4 ± 9.3 ^a
Peso Final (g)	216.8 ± 5.3 ^a	213.0 ± 14.0 ^a	219.9 ± 10.5 ^a	233.5 ± 13.7 ^a
Peso Ganado (g)	100.1 ± 5.3 ^a	94.4 ± 14.0 ^a	92.5 ± 10.5 ^a	104.2 ± 13.7 ^a
Talla Inicial (cm)	18.4 ± 0.4 ^a	18.6 ± 0.6 ^a	19.0 ± 0.7 ^a	19.1 ± 0.6 ^a
Talla Final (cm)	22.6 ± 0.2 ^a	22.4 ± 0.3 ^a	22.4 ± 0.1 ^a	22.6 ± 0.4 ^a
TCE (%/día)	1.2 ± 0.0 ^a	1.2 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.0 ^a	1.2 ± 0.1 ^a
FCA	1.6 ± 0.0 ^a	1.6 ± 0.0 ^a	1.6 ± 0.0 ^a	1.6 ± 0.1 ^a
Supervivencia (%)	97.5 ± 5.0 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	100.0 ± 0.0 ^a

Los valores representan el porcentaje promedio de n= 3 ± desviación estándar de materia seca. D_c = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50 % de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05). TCE: tasa específica de crecimiento expresada en (%/día). FCA: Factor de conversión alimenticia.

En esta misma Tabla, se puede observar que los alimentos experimentales no tuvieron un efecto significativo (P < 0.05) sobre el desarrollo y crecimiento. Lo anterior, difiere a lo reportado por Vilhelmsson *et al.* (2004), quienes describieron que la sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal afecta el metabolismo de los organismos y con ello su desarrollo y crecimiento. Sin embargo, en el presente estudio la sustitución por proteína de origen vegetal no afecta el desarrollo de la tilapia, lo cual se podría deber a que estos autores utilizaron solo una fuente de proteína vegetal en vez de utilizar varias como en el presente estudio. Por lo tanto, se concluye que los alimentos experimentales con los diferentes grados de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal no tienen efecto negativo en los parámetros de crecimiento y desarrollo. Esto es debido a que los alimentos experimentales cumplen todos los requerimientos nutricionales para un apto desarrollo de las tilapias del Nilo en etapa adulto comparándolo con la D_c. Se ha descrito que en esta etapa de vida de los peces el requerimiento de proteína se reduce,

además de que los organismos están más aptos metabólicamente para poder aprovechar la proteína de origen vegetal que es más compleja. (Horn, 1997; Maina *et al.* 2002)

Etapa 3: Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal en el Alimento por Proteína de Origen Vegetal sobre los Cambios Fisiológicos.

En la Tabla 6 se presentan los parámetros fisiológicos del músculo de las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control.

Contenido de ATP

El ATP es la fuente de energía más abundante del músculo. Los niveles de este metabolito disminuyen considerablemente como respuesta al estrés generado durante su manejo y transporte de organismos marinos (Sikorski *et al.*, 1990). En general, en la literatura se indica que niveles altos de ATP en el músculo de los organismos son el reflejo de una excelente condición fisiológica y, en consecuencia, estos se consideran un producto de excelente calidad y fresca.

En la Tabla 6, se puede observar que la concentración inicial de ATP fue de 0.12 $\mu\text{Mol/g}$ de músculo de tilapias, el cual no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los distintos niveles de sustitución ni control. El valor encontrado de ATP es superior al 0.06 $\mu\text{Mol/g}$ de ATP encontrado por Jiménez-Ruíz *et al.* (2015) en ostión japonés (*Crassostrea gigas*), además es inferior a las concentraciones reportadas en otros estudios, tal es caso de estudio reportado por Ocaño-Higuera (2003), quien encontró 13 $\mu\text{Mol/g}$ de ATP en base seca para *Nodipecten subnodosus*. El bajo valor de ATP inicial encontrado en el presente estudio se pudo deber al alto nivel de estrés de los peces al momento de captura y/o el método de sacrificio. Normalmente, los valores promedio de ATP en el músculo de los organismos marinos que no son sometidos a estrés fluctúa entre 8 y 10 $\mu\text{Mol/g}$ de músculo, por consiguiente, el bajo valor obtenido de ATP indicó que posiblemente el ATP pudo haber sido utilizado para contrarrestar el estrés y poder sobrevivir ante las condiciones imperantes en el medio.

Tabla 6. Parámetros fisiológicos de las tilapias alimentadas con los diferentes niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control

Parámetros	D _c	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
ATP (μmol/g)	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a
CEA	0.33±0.02 ^a	0.32±0.02 ^a	0.36±0.02 ^a	0.35±0.02 ^a
Glucógeno (mg/g)	5.36 ± 0.05 ^{a,c}	5.23 ± 0.12 ^{a,b}	5.55 ± 0.19 ^{c,d}	5.73±0.22 ^d
Carbohidratos Totales (mg/g)	36.83 ± 2.70 ^a	36.47 ± 8.34 ^a	36.23 ± 7.07 ^a	36.90 ± 5.80 ^a
pH	6.78±0.01 ^a	6.77±0.03 ^a	6.79±0.02 ^a	6.81±0.02 ^a

Los valores representan el porcentaje promedio de $n= 3 \pm$ desviación estándar de materia seca. D_c = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50 % de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Carga Energética Adenilada (CEA):

La CEA es un indicador confiable de la condición fisiológica de los organismos bivalvos. Esta determinación se emplea para describir el equilibrio dinámico que existe entre los componentes que integran el sistema energético celular, la cual puede ser utilizada para discriminar entre organismo de buena y mala condición fisiológica (Maguire *et al.*, 1999). El término de CEA se define como el estado de la energía en un sistema cuantificado con base al contenido de ATP-ADP-AMP. La CEA refleja el estatus energético del organismo. Anteriormente, en la sección de materiales y métodos se describió la ecuación para calcular la CEA, en donde un valor de 1 indica que todos los nucleótidos son ATP y un valor de 0 que todos son AMP. Valores entre 0.8 y 1 indican que se trata de organismos saludables, mientras que valores de 0.5 indican organismos de condición fisiológica pobre.

En el presente estudio, los valores de CEA variaron entre 0.32 y 0.36 entre los diferentes alimentos experimentales y control, no encontrándose diferencias significativas entre ellos ($P > 0.05$). Los valores de CEA obtenidos fueron menores a los reportados por Parisi *et al.* (2004), quienes obtuvieron un valor 0.76 en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Esta diferencia se puede deber a que estos autores sacrificaron a la trucha arcoíris con un golpe en la cabeza inmediatamente después de someterse a narcosis (aturdimiento) con agua y hielo, lo cual no produce tanto estrés en los peces a comparación

del shock térmico de agua con hielo al que únicamente se sometieron las tilapias en el presente estudio. Además, las muestras de Parisi *et al.* (2004) se congelaron en nitrógeno líquido inmediatamente después del fileteo, mientras que las muestras del presente estudio se congelaron en un congelador a -80°C , lo cual es un proceso de congelación mucho más lento que permite la degradación del ATP por un mayor tiempo.

Contenido de carbohidratos totales

En términos de reservas nutricionales, los carbohidratos desempeñan un papel importante en la producción de energía en la mayoría de los organismos (Mathews *et al.*, 2002). En la literatura se ha observado que cuando los organismos vivos se colocan en un ambiente ajeno al natural experimentan una serie de respuestas fisiológicas en el músculo (Gómez-Jiménez *et al.*, 2000), lo cual les permite sobrevivir ante las nuevas condiciones que imperan en el medio. Dentro de estas respuestas fisiológicas compensatorias se encuentran la disminución en la concentración de carbohidratos totales (Beltrán *et al.*, 1997), con la finalidad de producir glucógeno y posteriormente ATP.

En la Tabla 6 se presentan los valores promedio del contenido de carbohidratos totales en las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución. En ella se puede observar que los valores obtenidos variaron entre 36.23 y 36.90 mg de glucosa por g de músculo, no encontrándose diferencias significativas entre los alimentos experimentales y control ($P \geq 0.05$). Los valores obtenidos fueron mayores a los 2.2 mg/g de músculo en carpa *Schizothorax esocinus* por Manzoor *et al.* (2014). Estas diferencias en el contenido de carbohidratos totales se pueden deber a variaciones entre las especie, sexo, tamaño y localización de captura, así como a los factores ambientales (Huss *et al.*, 1999).

Contenido de Glucógeno

Dado que el glucógeno es el compuesto más prominente de los carbohidratos almacenados en el tejido muscular de los organismos, éste representa un indicativo del estatus nutricional del organismo (Uzaki *et al.*, 2003). El contenido de glucógeno se utiliza como un indicador confiable de la condición fisiológica de los organismos, debido a que su concentración en el músculo se ve modificada por cualquier cambio en el medio y/o condición de estrés. Valores altos indican buena condición fisiológica, mientras que valores bajos indican que la

condición fisiológica es pobre y que el organismo ha sido sometido a una condición de estrés agudo (Álvarez-Trujillo, 2012; Huss 1999).

En la Tabla 6 se presentan los valores promedio del contenido de glucógeno en las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución. En ella, se puede observar que los valores de glucógeno incrementaron conforme aumentó el nivel de sustitución de proteína de origen animal por vegetal. Los valores se incrementaron de 5.23 a 7.73 mg/g de D₀ a D₁₀₀. Se encontraron diferencias significativas entre los alimentos experimentales y control ($P < 0.05$). Vilhelmsson *et al.* (2004) reportaron que peces alimentados con proteína vegetal tienden a almacenar más carbohidratos y utilizar las grasas como energía de reserva. Por lo tanto, al poseer mayor cantidad de carbohidratos en los alimentos (mayor grado de sustitución), aumenta la cantidad de glucógeno almacenado. Comparando con los resultados obtenidos por Montoya-Camacho (2013), en el presente estudio se obtuvieron valores más elevados en glucógeno, esto se puede inferir debido a que los peces en el estudio de Montoya-Camacho (2013) se sacrificaron y transportaron por al menos 3 h desde el sitio de colecta y sacrificio hasta al laboratorio donde se hicieron los análisis. Asimismo, se obtuvo un valor menor al reportado por Ocaño-Higuera (2003) en almejas mano de león debido a que estas recibieron 12 h para recuperarse del estrés y fueron sacrificadas con nitrógeno líquido, lo cual generó menos estrés. De igual forma, los valores obtenidos fueron menores a los 75 mg de glucógeno/g de músculo encontrados en músculo abductor de *Pecten albicans* reportado por Wongso y Yamanaka (1998). Estas variaciones se pueden deber al estado nutricional, ciclo de gametogénesis, las condiciones fisiológicas y el estrés.

Vido de Mattio *et al.*, (2001) describieron que el principal constituyente de los carbohidratos totales es el glucógeno, el cual se ha reportado constituye hasta un 93 % dependiendo de la especie. En nuestro estudio se encontró que el contenido de glucógeno representa entre el 14.34 y 15.51 % del contenido de carbohidratos totales.

Con base, a los resultados obtenidos se infiere que las tilapias del Nilo tienden a almacenar mayor cantidad de glucógeno en el músculo al aumentar la sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, debido a que los alimentos poseen mayor cantidad de carbohidratos como se puede observar en la Tabla 3.

pH

En la literatura se ha descrito un alto nivel de glucógeno en organismos libres de estrés, posterior a la muerte y bajo condiciones anaerobias éste se convierte en ácido láctico, el cual produce una disminución del pH muscular (Huss, 1999). La velocidad y descenso del pH está en función de la especie y de la liberación de los fosfatos inorgánicos y amoníaco provenientes de la degradación de ATP y proteínas (Sikorski *et al.*, 1990).

Dependiendo del grado de descenso del pH, es el efecto en las propiedades físicas y tecnológicas del músculo (Ashie *et al.*, 1996), como son la textura y capacidad de retención de agua, propiedades que se ven afectadas conforme el pH se acerca al punto isoeléctrico de las proteínas (pH de 5.5). En el caso de los organismos estresados, la literatura indica que los niveles de glucógeno previo a la muerte son bajos y el descenso de pH es mínimo, lo cual favorece el crecimiento bacteriano y acelera el deterioro (Huss, 1999).

En la Tabla 6 se presentan los valores promedio de pH en las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal y control. En ella se puede observar que los valores oscilaron entre 6.77 y 6.81. Los valores obtenidos son similares a los reportados por Montoya-Camacho (2013) para tilapia (pH= 6.77± 0.03). Asimismo, se encuentran dentro del rango reportado por Love (1976) (pH=6.70-7.00) para organismos marinos recientemente capturados. De igual forma, son similares a los descrito por Yamanaka (1989) (pH = 6.67) para el músculo de *Patinopecten yessoensis*. Con respecto al efecto del nivel de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal, no se encontraron cambios significativos entre los alimentos experimentales y el alimento control ($P \leq 0.05$).

Etapa 4. Evaluación del Efecto de la Sustitución de Proteína de Origen Animal por Proteína de Origen Vegetal, sobre la Composición Química Proximal en el Filete

En la Tabla 7 se presenta el efecto de los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) y control, sobre la composición proximal del músculo de tilapia. En ella se puede observar que no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre los tratamientos en humedad, proteína y fibra cruda, mientras que si se afectaron significativamente ($P \geq 0.05$) el contenido grasas cruda y cenizas.

Con respecto al contenido de grasa cruda, el porcentaje se incrementó con el aumento del nivel de sustitución de proteínas de origen animal por proteína de origen vegetal. Lo anterior se debe a que, con el aumento de sustitución de proteínas de pescado por proteínas de origen vegetal se aumenta la cantidad de ELN en forma de almidón en el alimento, lo que obliga al metabolismo de la tilapia a producir mayor cantidad de amilasas en su organismo. Esto lleva a las tilapias a utilizar el almidón como energía de reserva y almacenarlo en el músculo en forma de glucógeno y mayor cantidad de grasa. Vilhelmsson *et al.* (2004) describieron que el metabolismo de truchas arcóris *Oncorhynchus mykiss* alimentadas con alimentos experimentales elaborados con proteína de origen vegetal está más propensas a almacenar lípidos, esto se infiere porque todas las dietas experimentales contienen la misma cantidad de lípidos. Cuando existe una mayor cantidad de carbohidratos en el alimento, el metabolismo de los peces produce una mayor cantidad de aldolasas y flavoproteínas, las cuales conllevan a un aumento en la utilización de los carbohidratos presentes en el alimento que son almacenados como glucógeno en el músculo e hígado y como lípidos en el músculo y órganos (Vilhelmsson *et al.*, 2004; Horn, 1997). Estos últimos no serán utilizados hasta que se termine la reserva de carbohidratos.

Tabla 7. Composición proximal de los músculos de tilapia alimentados con los diferentes niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control.

	D_c	D₀	D₅₀	D₁₀₀
Humedad (%)	77.0 ± 0.3 ^a	77.3 ± 0.7 ^a	77.3 ± 0.6 ^a	77.9 ± 0.6 ^a
Proteína Cruda (%)	13.3 ± 0.7 ^a	12.0 ± 0.8 ^a	12.7 ± 0.2 ^a	12.7 ± 0.0 ^a
Grasa Cruda (%)	4.3 ± 0.4 ^a	4.3 ± 0.1 ^a	4.6 ± 0.3 ^a	5.3 ± 0.0 ^b
Cenizas (%)	2.5 ± 0.2 ^a	2.7 ± 0.3 ^a	3.3 ± 0.0 ^b	3.3 ± 0.1 ^b
Fibra Cruda (%)	1.3 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.1 ^a

Los valores representan el porcentaje promedio de n= 3 ± desviación estándar de materia seca. D_c = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50% de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05)

CONCLUSIONES

Se elaboraron los alimentos con distintos niveles de sustitución (0, 50 y 100 %) de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal. Se determinó la composición química proximal de los alimentos experimentales y se comparó con un alimento comercial (Dc). Se encontraron diferencias significativas en el contenido de grasa cruda, cenizas, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno en los alimentos experimentales en comparación con el alimento control.

Los niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) evaluados en el presente estudio, no afectaron el crecimiento y desarrollo de las tilapias alimentadas con dichas formulaciones, sin embargo, afectó mínimamente los parámetros fisiológicos en el músculo, por lo que su utilización, representa una alternativa viable y con gran potencial para reducir costos de producción derivados del alimento sin impactar las características fisiológicas, de desarrollo y crecimiento de las tilapias.

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar el efecto de los niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteínas de origen vegetal (D_0 , D_{50} y D_{100}) utilizados en el presente estudio sobre la calidad física, química, microbiológica y sensorial de la tilapia, a fin de determinar su impacto en la vida de anaquel de este importante recurso pesquero nacional.

Se recomienda hacer pruebas de actividad enzimática para evaluar el efecto exacto que tiene la sustitución de proteínas de origen animal por proteína de origen vegetal, sobre el metabolismo. Además de cuantificar la cantidad de ácido láctico producido durante el momento de sacrificio.

Se recomienda la utilización de narcosis (anestesia o aturdimiento), previo al sacrificio, al igual que congelar los filetes en nitrógeno líquido para obtener un resultado más preciso de los valores de los indicadores fisiológicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguiar, D.H., Barros, M.M., Padovani, C.R., Pezzato, L.E., Pai-Silva, D.M. (2005). Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*. 67: 1287–1298.
- Álvarez-Trujillo, A.M. (2012). Vida útil de la dorada almacenada en refrigeración con hielo. Influencia de distintos factores del cultivo. (Tesis de Doctorado). Universidad de Murcia. Murcia, Murcia, España.
- AOAC (2012) *Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemistry International. Volume II*, (19th edition) / Gaithersburg, Maryland, USA.
- Ashie, I.N., Smith J.P., Simpson, B.K. (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36, 87–121.
- Ayaid, F. Y., Rosentraer, K. A., Muthukurmarappan, K. 2012. Alternative Protein Source for Aquaculture Feeds. *Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition*. 4 (1): 1-26.
- Bauer, W., Prentice-Hernandez, C., Borges Tesser, M., Wasielesky Jr, W., Poersh, L.H.S. (2012). Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 342-343: 112-116
- Beltrán, J.A., Jaime, I., Santolaria, P., Sañudo, C., Alberti, P. y Roncalés, P. (1997). Effect of stress-induced high post-mortem pH on protease activity and tenderness of beef. *Meat Science*. 45(2): 201-207.
- Blanco, A. (2005). Amoniaco en el acuario. Peces-tropicales.idoneos.com. Recuperado de: <https://peces-tropicales.idoneos.com/generalidades/amoniaco/>
- Boonyaratpalin, M., Suraneiranat, P., Tunpibal, T. (1998). Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 161: 67–78.
- Bulbul, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Kader, A., Md. (2013). Performance of kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* fed diets replacing fishmeal with a combination of plant protein meals. *Aquaculture*. 372–375: 45–51.
- Burr, G.S., Wolters, W.R., Barrows, F.T., Hardy, R.W. (2012). Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 334-337: 110-116.

- Cantor-Atlantenco, F. (2007). Manual de producción de tilapia. Puebla, México: Secretaria de Desarrollo Rural del Estado de Puebla. 97 pp.
- Cho, S.H., Jo, J.Y. (2002). Effect of dietary energy level and number of meals on growth and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) during summer and winter seasons. *Journal of World Aquaculture Society*. 33: 48-56.
- CONAPESCA. (2013). Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura. Anuario Estadístico de Agricultura y Pesca 2013. Recuperado de: <http://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>.
- CONAPESCA. (2012). Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura. *Criterios Técnicos y Económicos para la Producción Sustentable de Tilapia en México*. Recuperado de: http://www.academia.edu/13386065/Criterios_T%C3%A9cnicos_y_Econ%C3%B3micos_para_la_Producci%C3%B3n_Sustentable_de_Tilapia_en_M%C3%A9xico.
- CONAPESCA. (2011). Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. *Guía Empresarial para el Cultivo, Engorda y Comercialización de la Tilapia (Mojarra)*. Recuperado de: http://www.fec-chiapas.com.mx/sistema/biblioteca_digital/guiaempresarialtilapia.pdf.
- Cruz-Suárez, L.E., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., Scholz, U., Rique-Marie, D. (2007). Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*. 272: 466–476.
- Delgado-Vidal, F.K., Gallardo-Collí, A., Cuevas-Pérez, L., García-Ulloa, M. (2009). Crecimiento compensatorio en tilapia *Oreochromis niloticus* a su alimentación con harina de plátano. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 13(2): 55-70.
- Dias, J., Conceição, L.E.C., Ribeiro, A.R., Borges P., Valente, L.M.P., Dinis, T.M. (2009). Practical diet with low fish-derived protein is able to sustain growth performance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during the grow-out phase. *Aquaculture*. 293: 255–262.
- Duarte, C.M., Holmer, M., Olsen, Y., Soto, D., Marbà, N., Guiu, J., Black, K., Karakassis, I. (2009). Will the oceans help feed humanity? *Bioscience*. 59, 11.
- El-Saidy, D.S.D., Gaber, M.A. (2002). Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*. 33 (3): 297-306.
- El-Sayed, A.F.M. (1999). Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* *Aquaculture*. 179(1-4): 149-168.

- El-Sayed, A.F.M. (2006). Tilapia culture in salt water: environmental requirements, nutritional implications and economic potentials. En: Editores Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavaros, D.A., Puello-Cruz, A.C., García-Ortega, A.G., *Avances en Nutrición VIII*. Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- El-Sayed, A., T; Moñino, A; Gómez, J.A; Martínez, S; Pérez, L; Asturiano, J; Jover, M. (2003). Crecimiento de juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con piensos de diferentes niveles proteico y lipídico. Grupo de Investigación en Recursos Acuícolas. Dpto. de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, Valencia, España.
- Elangovan, A., Shim, K.F. (2000). The influence of replacing fish meal partially in the diet with soybean meal on growth and body composition of juvenile tin foil barb (*Barbodes altus*). *Aquaculture*. 189: 133-144.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture (2016). Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>.
- Forrest, J. C., Aberle, E. D., Hedrick, H. B., Judge, M. D., Merkel. R. A. (1975). Conversion of muscle to meat. En: *Principles of Meat Science*. (pp. 145-156). San Francisco, USA: W. H. Freeman and Company.
- Gómez-Jimenez, S., Uglow, R.F., Gollas-Galva, T. (2000). The effects of cooling and emersion on total haemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 10, 631–635.
- González-Félix, M.L, Perez-Velazquez, M., Villalba-Villalba, A.G., Civera-Cerecedo, R., Ezquerro, J.M., Goytortúa-Bores. E. (2010). Tailoring a diet for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Culture in Northwest Mexico. *Journal of Marine Science and Technology*. 18 (5): 674-681.
- Günşen, U., Özcan, A., Aydin, A. (2011). Determination of some quality criteria of cold stored marinated anchovy under vacuum and modified atmosphere conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 11: 233-242.
- Haard, N. (1992). Biochemistry and chemistry of color and color change in seafood. En: Flinck, J. (Ed.), *Advances in seafood biochemistry, composition and quality*. Papers from the American Chemical Society. (pp. 305-360). Pennsylvania, USA: E. Technomic Publishing Co. Inc.

- Horn, M. H. (1997). Feeding and Digestion en Evans, D. H. (2th ed). *The Physiology of Fishes*. (p. 43-64) Boca Raton, Florida; CRC Press LLC.
- Huss, H. H. (1999). *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/V7180S00.HTM>.
- IFFO. (2006). Fishmeal industry overview. International Fishmeal and Fish Oil Organization. Recuperado de: www.iffo.org.
- INAPESCA. (2003). Instituto Nacional de la Pesca. Memorias de la Reunión Nacional de Tilapia Recuperado de: <http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/1memoriastilapia1.pdf>.
- Jiménez-Ruiz, E. I., Márquez-Ríos, E., Cárdenas-López, J. L., Montoya-Camacho, N., Castillo-Yáñez, F. J., Duarte-Figueroa, M. E., Ruiz-Cruz, S., Balois-Morales, R. Ocaño-Higuera, V.M. (2015). Impact of two commercial in vivo transport methods on physiological condition of the japanese oyster (*Crassostrea gigas*),” *Journal of Chemistry*. Article ID 431074, 6 pages..
- Kader, A. Md., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M. (2010). Supplemental effects of some crude ingredients in improving nutritive values of low fishmeal diets for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. 308: 136–144.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M. (2008). *Lehninger: Principles of biochemistry*. New York: W.H. Freeman
- Love, R. M. (1976). *Processing Cod: The influence of season and fishing ground*. Aberdeen, Scotland: Torry Research Station.
- Maguire, J. Cashmore, D., Burnell, G. (1999). The effect of transportation on the juvenile scallop *Pecten mximus* (L). *Aquaculture Research*. 30: 325-333.
- Maina, J.G., Beames, R.M., Higgs, D., Nbugua, P.N., Iwama, G., Kisia, S.M. (2002). Digestibility and feeding values of some feed ingredients fed to tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*. 33: 853-862.
- Manzoor, T., Jan, U., Shah, M., Ganie, S.A. (2014). Variation of lipid and carbohydrate content in *Schizothorax esocinus* from Dal Lake of Kashmir Valley. *Pak. J. Biol. Sci.*, 17: 447-450.
- Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Ahein. K. G. (2002). *Bioquímica*. (3ra ed.) Madrid, España: Pearson.

- Montoya-Camacho, N. (2013). *Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el rigor mortis y la calidad del músculo de tilapia Oreochromis niloticus* (Tesis de Maestría). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Montoya-Mejía, M. (2012). *Digestibilidad de garbanzo, maíz alta calidad proteica y frijol quebrado en tilapia Oreochromis niloticus* (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa, México.
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldberg, R.J., Hua, K., Nichols, P.D. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *PNAS* 106, 36 www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0905235106.
- Ocaño-Higuera, V. M. (2003). *Efecto de la temperatura sobre la fisiología antemortem y la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor, en la almeja mano de león (Nodipecten subnodosus)*. (Tesis inédita de doctorado). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México.
- Olvera-Novoa, M.A., Campos G.S., Sabido G.M., Palacios, C.A.M. (1990). The use of alfalfa leaf protein concentrates as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 90: 291-302
- Parisi, G., de Francesco, M., Médale, F., Scappini, F., Mecatti, M., Kaushik, S.J., Poli, B.M. (2004). Effect of total replacement of dietary fish meal by plant protein sources on early *post mortem* changes in the biochemical and physical parameters of rainbow trout. *Veterinary Research Communications*. 28: 237–240
- Pearson, A. M., Young. R. B. (1989). *Postmortem changes during conversion of muscle to meat*. En: *Muscle and Meat Biochemistry*. (pp. 391-444). San Diego, CA. USA: Academic Press.
- Racotta, I.S., Ramírez, J.L., Ibarra, A.M., Rodríguez-Jaramillo, M.C., Carreño, D. y Palacios, E. (2003). Growth and gametogenesis in the lion's paw scallop *Nodipecten (Lyropecten subnodosus)*. *Aquaculture*. 217, 335-349.
- Regost, C., Arzel, J., Kaushik, S.J. (1999). Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*) *Aquaculture*. 180: 99–117.
- Rodehutschord, M., Mandel, S., Pack, M., Jacobs, S., Pfeffer, E. (1995). Free amino acids can replace protein-bound amino acids in test diets for studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Nutrition*. 125: 956–963.
- Ryder, J. M. (1985). Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high performance liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33(4), 678-680.

- Saavedra-Martínez, M.A. (2006). Manejo del cultivo de tilapia. Instituto de Capacitación, Investigación y Desarrollo Ambiental (CIDEA). Managua, Nicaragua. 22p.
- Salze, G., Mclean, E., Battle, P.R., Schwarz, M.H., Craig, S.R. (2010). Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*. 298: 294–299.
- Sandoval-Muy, M.I., Guereña-Araiza, M.A., Miranda-Baeza, A., Rivas-Vega, M.E. (2012). Metabolismo de rutina y actividad enzimática digestiva en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*) aclimatada a diferentes salinidades. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. Vol. XIV (2): 11-17.
- Saubot, P. (2002). El ciclo del nitrógeno en los estanques y lagos. [online] Estanquesypeces.com. Recuperado de: https://www.estanquesypeces.com/estanques/ciclo_del_nitrogeno.htm.
- Sikorski, Z. E, Kolakowska, A., Burt, J. R. (1990). Postharvest biochemical and microbial changes. En: Sikorski, Z. E. (Ed.) *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. (pp. 55-75). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Solórzano L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite *U.S. Atomic Energy Commission Contract No. ATS (11-1) GEN 10, P.A. 20*. Recuperado de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.4319/lo.1969.14.5.0799/pdf>
- Suárez, J. A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, R., Cadavid, S., García, G., Alanis, G., Suárez, A., Faillace, J., Cuzon, G. (2009). Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*. 289: 118-123.
- Surette, M. E., Gill, T.A., Leblanc, P. J. (1988). Biochemical basis of *post mortem* nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 36: 19-22.
- Taylor, J., Taylor, J.R.N. (2011). Protein biofortified sorghum: effect of processing into traditional african foods on their protein quality. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 59: 2386–2392
- Tacón, A.G. (1989). Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*, FAO ed., Roma, Italia, pp. 288-300.
- Toledo-Pérez, S.J., García-Capote, M. C. (2000). Nutrición y alimentación de tilapia cultivada en América Latina y el Caribe. pp 83-137 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición*

- Acuícola IV. Memorias del IV Simposium *Internacional de Nutrición Acuícola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Trovsik, K.A., Thompson, K.R., Metts, L.A., Gannam, A., Twibell, R., Webster, C.D. (2012). Growth and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, fry fed Organic diets containing yeast extract and soybean meal as replacements for fish meal, with and without supplemental lysine and methionine. *Journal of the World Aquaculture Society*. 43 (5): 635-647.
- Ulrich, H. (2010). El Ciclo del Nitrogeno - Química en el acuario - CRoA - Club Rosarino de Acuarismo. [online] Croa.com.ar. Recuperado de: <http://www.croa.com.ar/Notas.php?notald=21>.
- Uzaki, N., Kai, M., Aoyama, H., Suzuki, T. (2003) Changes in mortality rate and glycogen content of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* during the development of oxygen-deficient waters. *Fisheries Science* 69: 936-943.
- Vido de Mattio, N., Paredi, M.E., Crupkin, M. (2001). Influence of the gonadal cycle and food availability on *postmortem* change in glycogen, ATP, hypoxanthine and 260/250 absorbance ratio in adductor muscle from scallop *Aequipecten tehuelchus* (D' orbigny, 1846). *Journal Shellfish Research*. 20: 111.
- Vilhelmsson, O.T., Martin, S.A.M., Médale, F., Kaushik, S.J., Houlihan, S.J. (2004). Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition*. 92: 71–80.
- Wongso, S., Yamanaka, H. (1998). Extractive components of the adductor muscle of japanese baking scallop and changes during refrigerated storage. *Journal of Food Science*. 63: 772–776.
- Wongso, S., Ushio, H., Ohshima, T., Yamanaka, H. (1998). Changes in content of octopine, acidic opines, related amino acids and phosphoarginine in the adductor muscle of three species of scallop during storage. *Journal of Food Biochemistry*. 22(1), 65-81.
- Woyewoda, A. D., Shaw, S. J. Ke, P. J., Burns. B. G. (1986). Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*. No.1448. Nova Scotia. Canada.
- Yamanaka, H. (1989). Changes in poliamines and amino acids in scallop adductor muscle during storage. *Journal of Food Science*. 54(5): 1133-1135.