



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DEL LENGUADO DE CORTÉS, *Paralichthys aestivalis* Gilbert y Scofield, 1898 Y DE LA TOTOABA, *Totoaba macdonaldi* Gilbert, 1890 EN RESPUESTA A DISTINTOS NIVELES PROTEICOS EN LA DIETA

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de MAESTRO
EN BIOCENCIAS
presenta:

CHRISTIAN MINJAREZ OSORIO

Hermosillo

Junio 2012

Universidad de Sonora

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

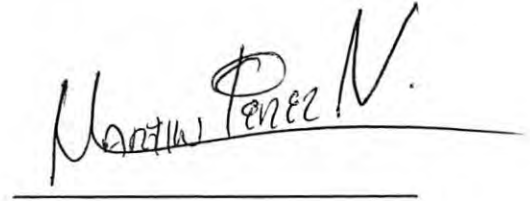
APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis intitulada CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DEL LENGUADO DE CORTÉS, *Paralichthys aestivalis* (Gilbert y Scofield, 1898), Y DE LA TOTOABA, *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890), EN RESPUESTA A DISTINTOS NIVELES PROTEICOS EN LA DIETA presentada por Christian Minjarez Osorio, la han encontrado satisfactoria y recomendada que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias con especialidad en acuicultura.



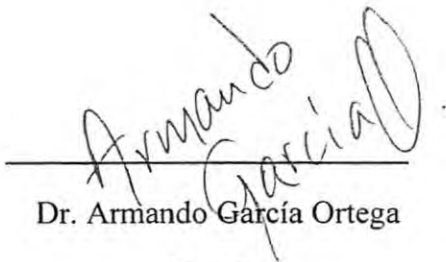
Dra. Mayra Lizett González Félix

Asesor



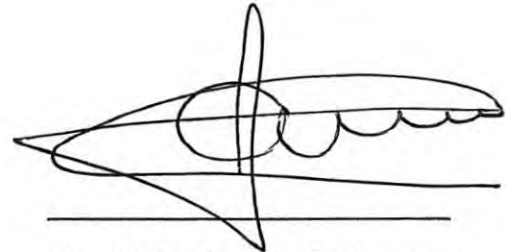
Dr. Martín Pérez Velázquez

Sinodal



Dr. Armando García Ortega

Sinodal



Dr. Alejandro Varela Romero

Sinodal

DEDICATORIA

A mis padres:

Luis Alejandro Minjarez Urrea y María del Carmen Osorio Encinas

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora y al Posgrado en Biociencias por permitirme realizar mis estudios de posgrado dentro de sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo económico para la realización de este proyecto.

A la Dra. Mayra Lizett González Félix y al Dr. Martín Pérez Velázquez, por toda la ayuda brindada además del apoyo y sabios consejos durante la realización del experimento.

Al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA), por permitir el uso de sus instalaciones en la parte de digestibilidad, en especial a la Dra. Marina Ezquerro y a la M.C. Miroslava por entrenarme en las técnicas de grado de hidrólisis

Al técnico de la Unidad Experimental Kino (UEK) Óscar Acosta y al personal de vigilancia (Fulgencio García, Lepoldo “Polo” Encinas y Ulises Becerra), por todo el apoyo otorgado, durante el desarrollo de la fase experimental del estudio.

A mis padres por la formación que me dieron desde pequeño, gracias a ellos llegué hasta este momento, muchas gracias, un éxito más en la vida.

A mis hermanos Pamela y Jorge quienes siempre me apoyaron y nunca dudaron de mis capacidades, muchas gracias.

Además de una persona que quiero y estimo a la Biól. Martha María del Rio Salas, por su apoyo y consejos en la realización de este trabajo.

A mi amigo y compañero de laboratorio Misael Rosales Leija y a mi amigo Martín por brindarme sus sabios consejos y su valiosa amistad.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
I.1. Lengado de Cortés	1
I.1.1. Clasificación taxonómica	3
I.1.2. Biología de la especie	3
I.1.3. Distribución	5
I.1.4. Pesca y utilización	5
I.1.5. El cultivo de peces planos	5
I.2. Totoaba	10
I.2.1. Clasificación taxonómica	10
I.2.2. Biología de la especie	10
I.2.3. Distribución	11
I.2.4. Pesca y utilización	11
I.2.5. Medidas de protección	11
I.2.6. Cultivo	13
I.3. Requerimientos nutricionales de peces	14
I.3.1. Proteína	14
I.3.2. Lípidos	14
I.3.3. Carbohidratos	15
I.3.4. Vitaminas	15
I.3.5. Minerales	16
I.4. Alimentos balanceados	16
I.4.1. Harina de pescado	17
I.5. Determinación del requerimiento de proteína en especies potencialmente cultivables	17
I.6. Análisis de digestibilidad	19
II. HIPÓTESIS	21
III. OBJETIVOS	22
II.1. Objetivo general	22
II.2. Objetivos específicos	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	23
IV.1. Obtención de los organismos experimentales	23
IV.2. Recepción y aclimatación	23
IV.3. Sistemas experimentales	24
IV.4. Siembra	24
IV.5. Tratamientos experimentales	24
IV.6. Análisis biométrico	25
IV.7. Calidad de agua	26

IV.8. Análisis proximal de las dietas experimentales	27
IV.8.1. Determinación de humedad	27
IV.8.2. Determinación de cenizas	27
IV.8.3. Determinación de proteína cruda	28
IV.8.4. Determinación de grasa cruda	29
IV.8.5. Determinación de fibra cruda	29
IV.9. Grado de hidrólisis de las dietas	30
IV.9.1. Análisis de actividad enzimática	30
IV.9.2. Ensayos de hidrólisis básica	31
IV.9.3. Ensayos de hidrólisis ácida	31
IV.9.4. Medición del grado de hidrólisis	32
IV.10. Índice hepatosomático y factor de condición	33
IV.11. Análisis estadístico	34
V. RESULTADOS	35
V.1. Análisis proximal de las dietas experimentales	35
V.2. Calidad de agua	35
V.2.1. Oxígeno disuelto	35
V.2.2. Temperatura	37
V.2.3. pH	38
V.2.4. Salinidad	39
V.2.5. Nitrógeno amoniacal total-N (mg NH ₄ -N)	41
V.2.6. Nitritos- N (NO ₂ -N)	43
V.2.7. Nitratos-N (NO ₃ -N)	44
V.3. Parámetros de producción para <i>P. aestuarius</i>	46
V.4. Grado de hidrólisis de las dietas experimentales para <i>P. aestuarius</i>	50
V.5. Parámetros de producción para <i>T. macdonaldi</i>	51
V.6. Grado de hidrólisis de las dietas experimentales para <i>T. macdonaldi</i>	56
VI. DISCUSIÓN	58
VII. CONCLUSIONES	69
VIII. RECOMENDACIONES	70
IX. LITERATURA CITADA	71

RESUMEN.-

Se evaluó el crecimiento y supervivencia del lenguado de Cortés, *Paralichthys aestivalis* y de la totoaba, *Totoaba macdonaldi* en respuesta a tres niveles dietarios de proteína cruda (PC: 47, 52 y 55%). Este estudio de 56 días de duración se realizó en dos sistemas de recirculación al interior del Laboratorio Húmedo de Nutrición de la Unidad Experimental Kino. En uno de ellos se sembraron 120 totoabas de peso y longitud total inicial de 74.69 g y 196.21mm, respectivamente, distribuidas aleatoriamente en 24 tanques (5 por tanque) de 250 L, mientras que en el segundo sistema se sembraron 96 lenguados de Cortés (4 por tanque) de peso y longitud total inicial de 72.04 g y 180.81 mm, respectivamente. Las tres dietas experimentales iso-lípídicas se compararon con una dieta comercial para peces marinos de 38% PC como referencia externa, por lo que se excluyó del análisis estadístico. Cada tratamiento contó con 6 réplicas experimentales. Las totoabas se alimentaron a una tasa diaria de 4% del total de la biomasa, mientras que para el lenguado de Cortés fue de 3%. Adicionalmente, se determinó el grado de hidrólisis básico y ácido de las dietas experimentales *in vitro*. Al final del experimento no se observaron diferencias estadísticas entre las variables de desempeño evaluadas en ambas especies. La totoaba mostró una tasa de crecimiento específico de 1.66-1.79%/día, y factor de conversión de alimento de 2.17-2.30, mientras que para el lenguado fueron de 0.75-0.93%/día y de 6.16-7.98, respectivamente. El grado de hidrólisis (%) básica y ácida para totoaba varió entre 31.80-38.56% y 92.63-100%, respectivamente, y para el lenguado entre 33.91-41.38% y 86.74-95.83%, respectivamente. Bajo estas condiciones experimentales la dieta con 47% PC es aparentemente más rentable pues el desempeño en crecimiento de los organismos no fue diferente al de las dietas con mayor contenido proteico por lo que se recomienda este nivel de inclusión, aunque es necesario evaluar menores niveles de inclusión.

ABSTRACT.-

The biological performance of the Cortez flounder, *Paralichthys aestuarius* and the totoaba, *Totoaba macdonaldi*, in response three dietary levels of crude protein (CP: 47, 52 and 55%) was evaluated. A 56-day trial was carried out in two indoor recirculating culture systems at the Wet Nutrition Laboratory of Kino Bay Experiment Station. A total of 120 totoabas with an initial weight and total length of 74.69 g and 196.21 mm, respectively, were stocked (5 animals per tank) into one system and randomly distributed in 24 tanks of 250 L, whilst 96 Cortez flounders with an initial weight and total length of 72.03g and 180.81 mm, respectively, were stocked (4 animals per tank) into the second system. The three experimental iso-lipidic diets were compared to a commercial diet containing 38% CP that served as an external reference, thus, data from this treatment were excluded from the statistical analyses. Each treatment had six replicate tanks. Totoabas were fed daily at 4% of the biomass, whereas the Cortez flounder were fed at 3%. Additionally, the basic and acidic degree of hydrolysis of the experimental diets was determined *in vitro*. At the end of this trial, no significant differences were detected among treatments for any of the biological performance variables evaluated in both species. Totoaba showed a specific growth rate ranging between 1.66-1.79%/day, and a feed conversion ratio ranging between 2.17-2.30, while for the Cortez flounder they ranged from 0.75-0.93%/day and 6.16-7.98, respectively. The basic and acidic degree of hydrolysis in totoaba ranged from 31.80-38.56% and 92.63-100%, respectively, and for the flounder from 33.91-41.38% and 86.74-95.83%, respectively. Under these experimental conditions, the diet with 47% CP appears to be more profitable, since the biological performance of animals fed this diet was not different from fish fed the diets with higher protein content, therefore, this level of inclusion is recommended, though lower levels of inclusion should be evaluated.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Morfología externa del lenguado de Cortés.	4
2	Distribución geográfica del lenguado de Cortés.	6
3	Protocolo de alimentación para la fase larvaria del lenguado de California, <i>P. californicus</i> .	9
4	Morfología externa de la <i>T. macdonaldi</i> en su fase juvenil y adulta.	12
5	Distribución geográfica de la <i>T. macdonaldi</i> .	12
6	Concentración de oxígeno disuelto en el sistema M ₁ durante el periodo experimental.	36
7	Concentración de oxígeno disuelto en el sistema M ₂ durante el periodo experimental.	36
8	Temperatura registrada en el sistema M ₁ durante el periodo experimental.	37
9	Temperatura registrada en el sistema M ₂ durante el periodo experimental.	38
10	Valores de pH en el sistema M ₁ registrados durante el periodo experimental.	39
11	Valores de pH en el sistema M ₂ registrados durante el periodo experimental.	39
12	Valores de salinidad registrados en el sistema M ₁ durante el periodo experimental.	40
13	Valores de salinidad registrados en el sistema M ₂ durante el periodo experimental.	41
14	Valores de amonio NH ₄ -N/L en el sistema M ₁	42
15	Valores de amonio NH ₄ -N/L en el sistema M ₂	42
16	Valores de nitritos (NO ₂ -N) en el sistema M ₁	43
17	Valores de nitritos (NO ₂ -N) en el sistema M ₂	44

18	Valores de nitratos ($\text{NO}_3\text{-N}$) en el sistema M_1	45
19	Valores de nitratos ($\text{NO}_3\text{-N}$) en el sistema M_2	45

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Ingredientes y porcentaje utilizado en la formulación de las dietas experimentales para <i>P. aestuarius</i> y <i>T. macdonaldi</i> .	25
2	Composición proximal de las dietas experimentales y comerciales	35
3	Parámetros de producción de <i>P. aestuarius</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	47
4	Continuación de los parámetros de producción de <i>P. aestuarius</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	48
5	Continuación de los parámetros de producción de <i>P. aestuarius</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	49
6	Continuación de los parámetros de producción de <i>P. aestuarius</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	50
7	Grado hidrólisis (GH) de las dietas experimentales para <i>P. aestuarius</i> . Los valores son medias de 3 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	51
8	Parámetros de producción de <i>T. macdonaldi</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la	52

9	dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico Continuación de los Parámetros de producción de <i>T. macdonaldi</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	54
10	Continuación de los parámetros de producción de <i>T. macdonaldi</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	55
11	Continuación de los parámetros de producción de <i>T. macdonaldi</i> . Los valores son medias de 6 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	56
12	Grado hidrólisis (GH) de las dietas experimentales para <i>T.</i> <i>macdonaldi</i> . Los valores son medias de 3 replicas \pm D.E. Superíndices deferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.	57

I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

México se ha consolidado como un importante productor de camarón en los últimos años, siendo los estados del noroeste, Sonora y Sinaloa, los más productivos en el cultivo de este crustáceo, aportando más del 60% de la producción anual total (Avilés, 2005). Sin embargo, hoy en día existe entre los productores el interés de diversificar el cultivo con otras especies marinas.

El cultivo de peces marinos luce como una opción prometedora ya que con esto se disminuiría la presión pesquera sobre las poblaciones naturales, las cuales ya se encuentran al máximo nivel sustentable de explotación, además de que se contribuiría con el repoblamiento de especies nativas en vías de extinción. Según la FAO (2010), el cultivo de peces marinos mostró un crecimiento acelerado en el periodo 2000-2004. Ocupan el sexto lugar entre los organismos que más se cultivan en el mundo, con un volumen de 1,447,000 toneladas (t) reportado en 2004. Ocupan la sexta posición en valor económico y la tercera posición entre los organismos cuyo valor de venta es mayor que la cantidad producida, sólo después de los crustáceos y los peces diádromos, lo cual indica la gran aceptación de estos organismos en el mercado.

Respondiendo a esta gran demanda, varias instituciones en México han evaluado el desempeño de algunas especies como el pargo y botete diana en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Mazatlán, y el lenguado y jurel en el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Baja California (Zacarias-Soto *et al.* 2006; Chávez-Sánchez *et al.* 2008). Sin embargo, en el año 2002, la producción de peces marinos en el país no rebasó las 1,000 toneladas (sin contar la producción de atún) (García-Ortega, 2007), una cifra muy baja si la comparamos con los principales países productores como China, que presentó una producción de 30,614,968 t en 2004 (FAO, 2010). No obstante, México cuenta con una amplia superficie de tierras costeras para el cultivo de peces marinos y con vastos litorales con gran potencial para el desarrollo de la maricultura.

Una de las principales problemáticas que ha hecho que el cultivo de peces marinos no se desarrolle completamente a nivel mundial como otro tipo de cultivos (crustáceos y peces de agua dulce) ha sido el desconocimiento de los requerimientos nutricionales para las especies

de interés, y consecuentemente, la ausencia de formulaciones específicas para el desarrollo de alimentos balanceados comerciales (Hasan, 2001).

Uno de los componentes más importantes en la fórmula de alimentos balanceados en acuicultura es la proteína, además de ser el ingrediente más costoso. La proteína es utilizada por los organismos para crecimiento, si es que los niveles y tipo de lípidos y carbohidratos son adecuados, si no lo son, ésta será utilizada como fuente de energía. Adicionalmente, las proteínas dietarias también pueden ser utilizadas para síntesis de hormonas, enzimas y anticuerpos, por lo que juegan un papel importante como mensajeros en la actividad catalítica y en la inmunidad de los organismos. El desconocimiento de los requerimientos de proteína en las especies de interés ha ocasionado que se formulen alimentos con exceso de proteína, lo cual ha traído como consecuencia que el cultivo de peces marinos no luzca como una actividad rentable, además de provocar un fuerte impacto ambiental a la zona costera debido a la descarga de aguas eutrofizadas (Guillaume *et al.* 2001; Miles y Chapman *et al.* 2007; Craig y Helfrich, 2009). El principal metabolito de la descomposición de las proteínas es el amonio, el cual es sumamente tóxico para los organismos acuáticos; estudios recientes han demostrado que cambios en la concentración de nitrógeno en el ambiente marino provocan cambios en la estructura de las cadenas tróficas (Del Rio-Salas, 2011).

Lo anterior hace evidente la necesidad de investigar los requerimientos proteicos óptimos para nuevas especies con potencial de cultivo. Este estudio plantea evaluar los requerimientos proteicos del lenguado de Cortés, *Paralichthys aestivalis* y de la totoaba, *Totoaba macdonaldi* en condiciones de laboratorio, en un sistema cerrado de recirculación.

La justificación de este trabajo está basada principalmente, en el desconocimiento de los requerimientos de proteína del lenguado de Cortés y de la totoaba, ambas especies potencialmente cultivables, así como en la evaluación de su rendimiento en cautiverio. Para el lenguado de Cortés, *P. aestivalis*, el presente estudio consiste en el primer reporte de su evaluación como una opción de cultivo. Por otra parte, la totoaba, *T. macdonaldi*, es una especie sumamente importante actualmente catalogada como en peligro de extinción, y se pretende determinar su requerimiento proteico en condiciones de pre-engorda, lo cual sería un importante paso para su cultivo y conservación.

I.1. Lenguado de Cortés

I.1.1. Clasificación taxonómica

Reino: Animalia

Phyllum: Chordata

Clase: Actinopterygii

Orden: Pleuronectiformes

Familia: Paralichthyidae

Género: *Paralichthys*

Especie: *aestuarius*

I.1.2. Biología de la especie

La especie *P. aestuarius* presenta una talla media de 45 cm en su edad adulta, ojos situados en el lado izquierdo de la cabeza y la altura del cuerpo representa aproximadamente el 44% de la longitud estándar del pez. Presenta dientes caninos fuertes y esbeltos de tamaño moderado, además de ser uniseriados e igualmente desarrollados en ambas mandíbulas. Posee de 24 a 31 branquiespinas, la aleta dorsal cuenta con un intervalo de 72 a 85 radios. Las aletas pélvicas se encuentran en ambos lados del cuerpo en posición más o menos simétrica a la línea lateral. Las escamas del lado ocular (izquierdo) son ctenoides en ejemplares menores a 16 cm de longitud total y cicloides en organismos mayores de 32 cm. Las escamas del lado ciego son cicloides y la línea lateral se caracteriza por tener de 96 a 119 escamas, formando un pronunciado arco sobre la aleta pectoral y prolongada por debajo del ojo inferior (Figura 1). Son organismos de color café-chocolate pálido por el lado ocular, mientras que el lado ciego es claro sin manchas evidentes; los juveniles pueden presentar manchas oceladas en el cuerpo. Habita sobre fondos blandos, desde las zonas estuarinas hasta 44 m de profundidad, es común en la parte norte del Golfo de California. Son depredadores bentónicos, viven apoyados en el fondo por el lado ciego y tienen la capacidad de cambiar rápidamente de coloración adoptando la del sustrato (Fisher, *et al.* 1995a).

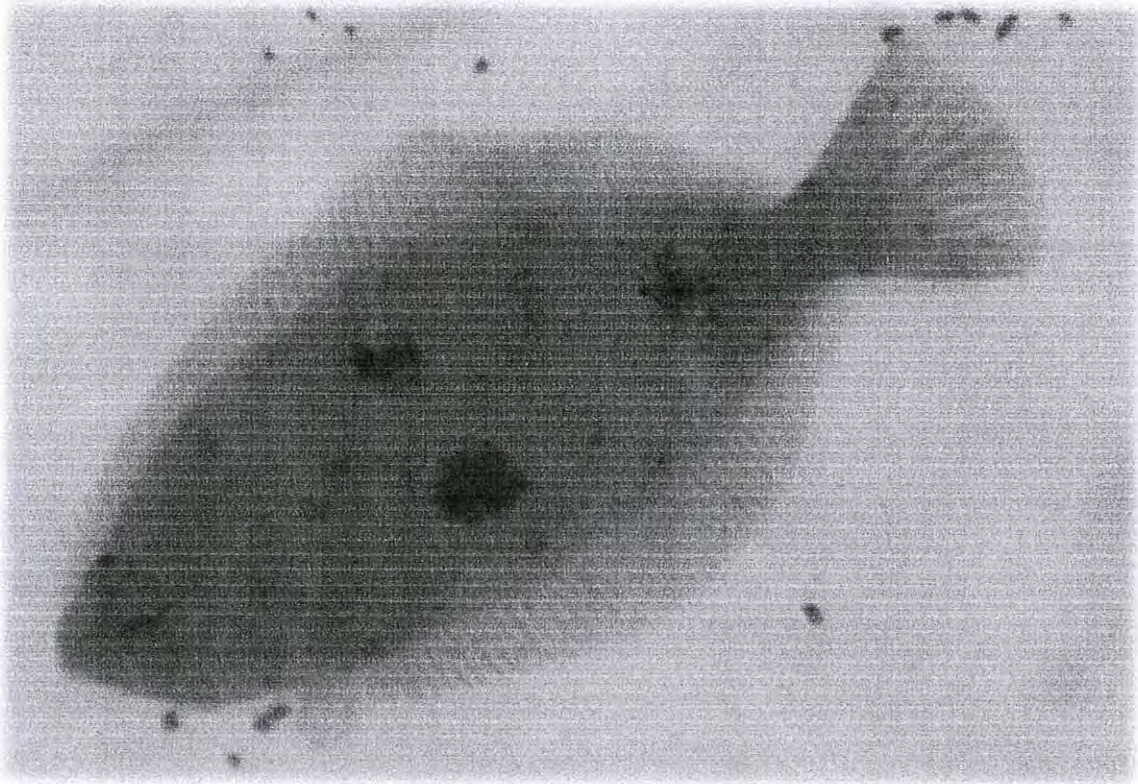


Figura1. Morfología externa del lenguado de Cortés.

I.1.3. Distribución

La distribución de las especie abarca todo el Golfo de California hasta Bahía Almejas en Baja California Sur, siendo menos frecuente en esta zona (Figura 2). Es probable que parte de su etapa juvenil transcurra en el estuario del Río Colorado y en otras localidades con ambientes lagunares. La especie podría ubicarse en el ambiente estenohalino, aunque la información sobre su auto-ecología es nula. La población que existe en la costa occidental de la península de Baja California parece estar restringida al sistema lagunar de Bahía Almejas y Magdalena, así como a los esteros que conforman dicho complejo, aunque de modo ocasional también se localiza en la zona nerítica aledaña, en profundidades muy someras. Es relativamente frecuente en los lances de pesca al arrastre de camarón que se realizan en la parte centro-norte del Golfo de California, ya que forma parte importante de la fauna acompañante del crustáceo (Castro-Aguirre, *et al.* 1999; Fisher, *et al.* 1995a).

I.1.4. Pesca y utilización

La mejor temporada de pesca de peces planos es de mayo a julio, siendo explotado mediante redes de arrastre, líneas y anzuelos. La región noroeste ocupa el primer lugar en la captura nacional con el 95%. La costa de Sonora ha tenido la producción promedio más alta del pacifico en 1990 y 2004, aunque con tendencia a disminuir. En Puerto Libertad, Sonora, las capturas de *P. aestuarius* ocupan en promedio el 30% de la captura total en el mes de junio. La captura de la especie se encuentra al máximo sustentable por lo que se ha recomendado iniciar el estudio de la biología básica de la especie, así como el evaluar la producción regional de las poblaciones y la selectividad de los chinchorros (Carta Nacional Pesquera, 2010).

I.1.5. El cultivo de peces planos

Scophthalmus maximus (rodaballo o turbot)

Esta especie de lenguado se distribuye en aguas del continente europeo, desde el Atlántico noroeste hasta el Ártico, aunque también existe en el Pacífico Sureste, Chile y en China,

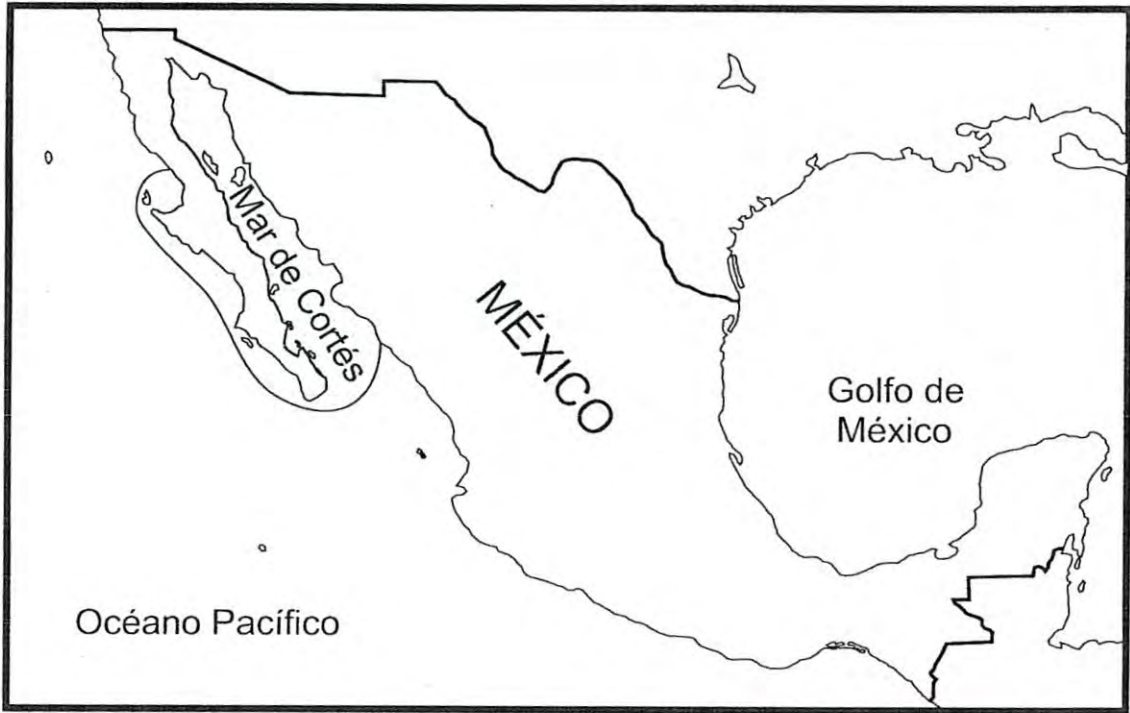


Figura 2. Distribución geográfica del lenguado de Cortés

donde ha sido introducido para su cultivo. El cultivo del rodaballo inició primeramente en Escocia en 1970. A mediados de 1990 el desarrollo de la tecnología en el cultivo larvario permitió que el volumen de producción de rodaballo cultivado, junto con el número de granjas, se incrementara considerablemente. El rodaballo es cultivado en España, Francia, Portugal, Dinamarca, Alemania, Irlanda, Italia, Noruega y Gales. La producción de estos países es de aproximadamente 5,000 t anuales. España es sin duda el mayor productor de rodaballo aportando cerca del 50 % de la producción total. Actualmente, el volumen de la pesca de rodaballo y lo producido por acuicultura comparten cantidades iguales en el mercado (Danancher y García-Vazquez, 2007). La supervivencia de las larvas es relativamente más baja que las de otros peces marinos cultivados. Las larvas eclosionan 60-70 días después de la fertilización y se alimentan con rotíferos (*Brachionus plicatilis*), nauplios de *Artemia* y fitoplancton. La metamorfosis termina después de 40-50 días cuando las larvas alcanzan un tamaño de 25 mm de longitud. Durante 2 ó 3 meses después de la incubación, los peces son alimentados con alimento micro-particulado hasta alcanzar un peso de 5 gramos. Su engorda se lleva a cabo en tanques en tierra o jaulas marinas de fondo plano, alcanzando la talla comercial (1.5-2 kg) en 18-20 meses.

Paralichthys olivaceus (Lenguado olivo)

Es una especie oriental de lenguado que se distribuye en el Pacífico oeste, desde Japón, Sakhalin, las islas Kuril, y la península de Corea, hasta el sur del mar de China. El lenguado olivo es una de las más importantes especies que actualmente se cultivan en Japón y cuya producción se ha incrementado de 648 t en 1983 a 4,592 t en 2005 (Kikuchi, 2008). El cultivo del lenguado olivo se lleva a cabo principalmente en el sur de Japón debido a las adecuadas condiciones de temperatura. A pesar de que otro tipo de peces marinos han sido producidos comúnmente en jaulas flotantes, el lenguado olivo se cultiva en sistemas de recirculación de tanques. El ciclo de producción comercial puede variar de un lugar a otro, sin embargo una gran ventaja que permite su cultivo exitoso es la disponibilidad de alevines casi todo el año. Los alevines de 1 a 3 g se obtienen de cultivos larvarios comerciales y son cultivados a una densidad de 100-200 peces/m² durante el invierno o a principios de la primavera. Los peces pueden alcanzar un peso de 0.5 kg en un periodo de engorda de 9 a 10 meses y llegar a pesar 1 kg en 14 a 16 meses de cultivo. La densidad de siembra del lenguado olivo disminuye cuando

los peces incrementan su peso y es ajustada a no menos de 15 kg/m². Los peces son alimentados con dietas comerciales durante los primeros meses y después se les añade trozos de sardina o macarela. Se ha reportado que la eficiencia alimenticia del lenguado olivo puede llegar a ser del 100% en peces engordados de 5 a 500 g (Honda y Kikuchi, 1997) y esta eficiencia disminuye cuando los peces son engordados de los 500 g hasta 1 kg. La tasa de supervivencia durante el periodo de cultivo varía de una granja a otra entre el 60 y 80%. Existen numerosas enfermedades que afectan al lenguado olivo provocadas principalmente por virus, bacterias y parásitos como rabdovirus, edwardsiellosis, estreptococo y la enfermedad de los puntos blancos. Respecto a su requerimiento de proteína se reportan altos valores, por arriba del 50% de proteína cruda, y actualmente se están evaluando formulaciones con ingredientes alternativos a la harina de pescado.

Paralichthys californicus

Esta especie se distribuye desde Canadá hasta Bahía Magdalena en Baja California Sur, México, y alcanza las mayores tallas de la familia Paralichthyidae con una longitud de hasta 1.50 m de longitud total y un peso de 32 kg (Castro-Aguirre, *et al.* 1999). Tiene gran aceptación comercial por la textura y sabor de su carne, alcanzando hasta 20 US dólares por kg, según su presentación. Actualmente, el Centro de Investigación Científica de Educación Superior de Ensenada (CICESE) ha logrado avances significativos en el cultivo de la especie. La institución ha logrado controlar la reproducción en cautiverio obteniendo una alta supervivencia en su cultivo larvario (80%), además de producir semilla comercialmente para abastecer granjas locales. En lo que refiere a su cultivo larvario, se ha adaptado el protocolo de alimentación utilizada en España, el cual consiste en la administración de rotíferos del día 3 al 17, nauplii de *Artemia* del día 14 al 42, y alimento micro-particulado del día 35 en adelante (Figura 3) (Conklin, *et al.* 2003).

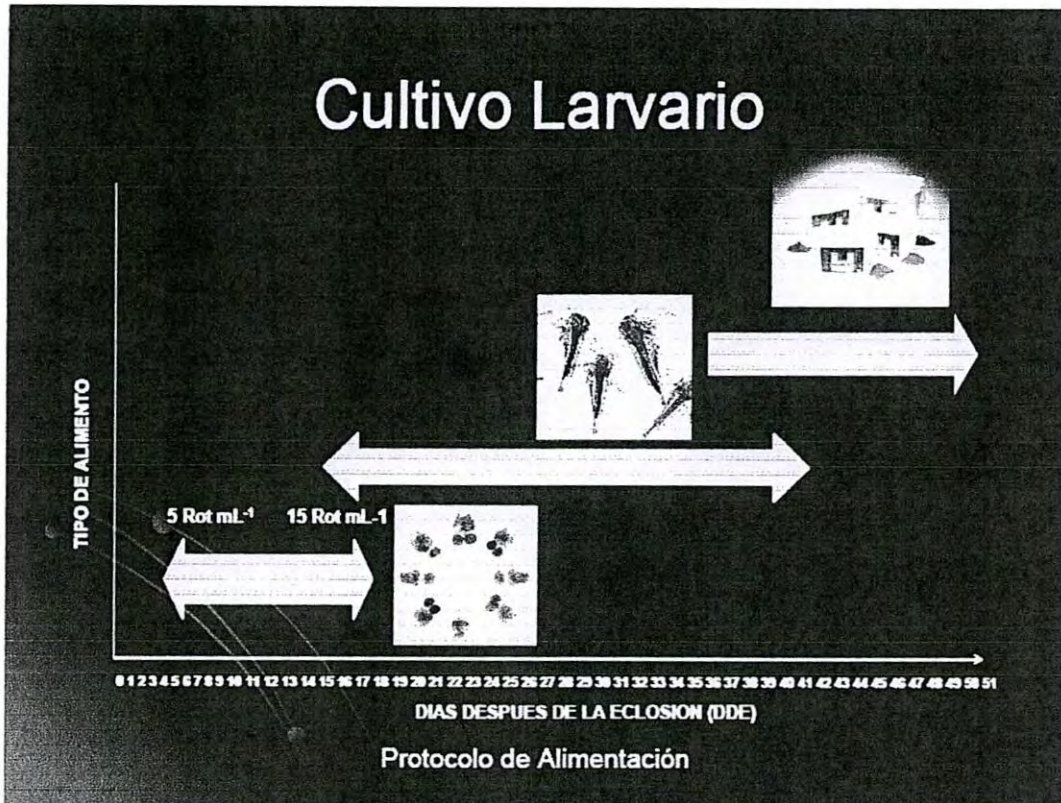


Figura 3. Protocolo de alimentación para la fase larvaria del lenguado de California, *P. californicus*. Fuente: Lazo-Covera, J.P., Laboratorio de Nutrición de Peces, Departamento de Acuicultura, CICESE.

I.2. Totaba

I.2.1. Clasificación taxonómica

Reino: Animalia

Phyllum: Chordata

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Familia: Sciaenidae

Género: *Totoaba*

Especie: *macdonaldi*

I.2.2. Biología de la especie

La especie *T. macdonaldi* puede alcanzar los 200 cm de longitud total en su edad adulta y un peso superior a los 100 kg, siendo uno de los peces de mayor talla dentro de la familia Sciaenidae. Presenta boca grande, oblicua y la mandíbula inferior levemente prominente, los dientes están dispuestos en bandas estrechas; mandíbula superior con los dientes de la hilera externa agrandados. Poseen la aleta caudal doblemente truncada en los adultos, puntiaguda en juveniles. Escamas casi enteramente ctenoides en el cuerpo y cabeza, cicloides en la parte ventral de la cabeza. La vejiga gaseosa o natatoria es relativamente grande en comparación a los órganos internos del pez y contiene un par de apéndices tubulares que nacen anteriormente y se doblan hacia atrás. El cráneo contiene dos otolitos de gran tamaño. La especie presenta un color gris-plateado con pequeñas manchas negras en los flancos y en la base de la segunda parte de la aleta dorsal. Las aletas presentan una coloración grisácea a oscura, además de un color amarillo en la superficie ventral de la cabeza y el pecho (Figura 4). La cavidad branquial es oscura con un borde amarillo, son depredadores activos, alimentándose de camarones y otros peces, principalmente (Fisher, *et al.* 1995b).

I.2.3. Distribución

La distribución de la especie se restringe exclusivamente al Golfo de California; es decir, es endémico de esta región (Figura 5). Habita en aguas costeras y los juveniles se concentran en bocas de ríos y cerca de costas rocosas (Rueda-López *et al.*, 2011).

I.2.4. Pesca y utilización

La pesquería de la totoaba fue una de las más importantes en el país, dio origen a los asentamientos humanos de Puerto Peñasco y Golfo de Santa Clara en Sonora, y San Felipe en Baja California Norte. Sin embargo, también fue una de las primeras en mostrar evidencias de sobreexplotación. La pesca incidental de juveniles por las redes camaroneras, la pesca incidental de pre-adultos por las redes tiburoneras y las alteraciones de su hábitat de desove y crianza (Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado), fueron causas que casi la llevaron a la extinción. Ya en la década de 1930 a 1940 se exportaban más de 1,000 t de esta especie hacia Estados Unidos. La ley mexicana ha expedido medidas de protección para la especie y las autoridades de Estados Unidos han reconocido su condición de especie en peligro. Es probable que esta pesquería no pueda restablecerse, aún si las poblaciones de la especie se recuperan (Pedrín-Osuna, *et al.* 2001; Fisher, *et al.* 1995b).

I.2.5. Medidas de protección

Se han tomado diferentes medidas de protección para la especie, la primera abarcó los años de 1940 a 1955, donde se tomaron medidas para proteger su reproducción. En 1974 se establecieron varias zonas de refugio para la especie a través del Golfo de California, entre las zonas se encontraban: la desembocadura del río Santa Clara, en Sonora, la de la reserva Punta Zacatoza, en Baja California y el Faro del Cerro el Machorro, en Sonora, al sur del poblado de Santa Clara. En 1975 se vedó definitivamente la captura de totoaba en el Golfo de California; en 1991 fue declarada especie en peligro de extinción y en 1992 se prohibió utilizar redes con luz de malla de 10 pulgadas (NOM-059-SEMARNAT-2001). Pese a estos esfuerzos de protección, la pesca clandestina de adultos de totoaba durante la época de reproducción (enero a mayo) ha continuado y los barcos camaroneros la capturan de forma incidental. Además de

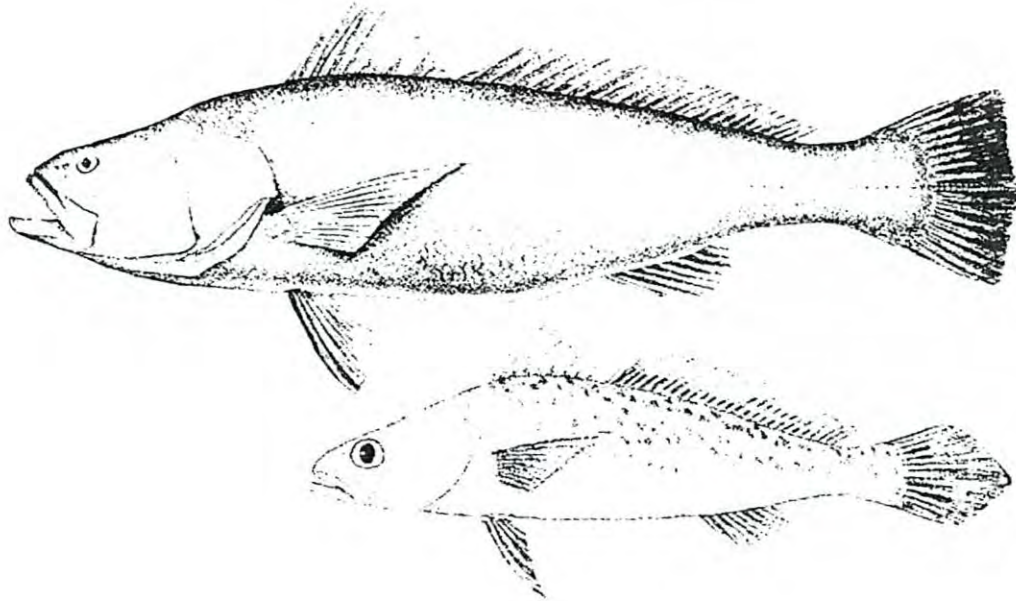


Figura 4. Morfología externa de la *T. macdonaldi* en su fase juvenil y adulta (Tomado de guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca, Pacífico Centro-Oriental).

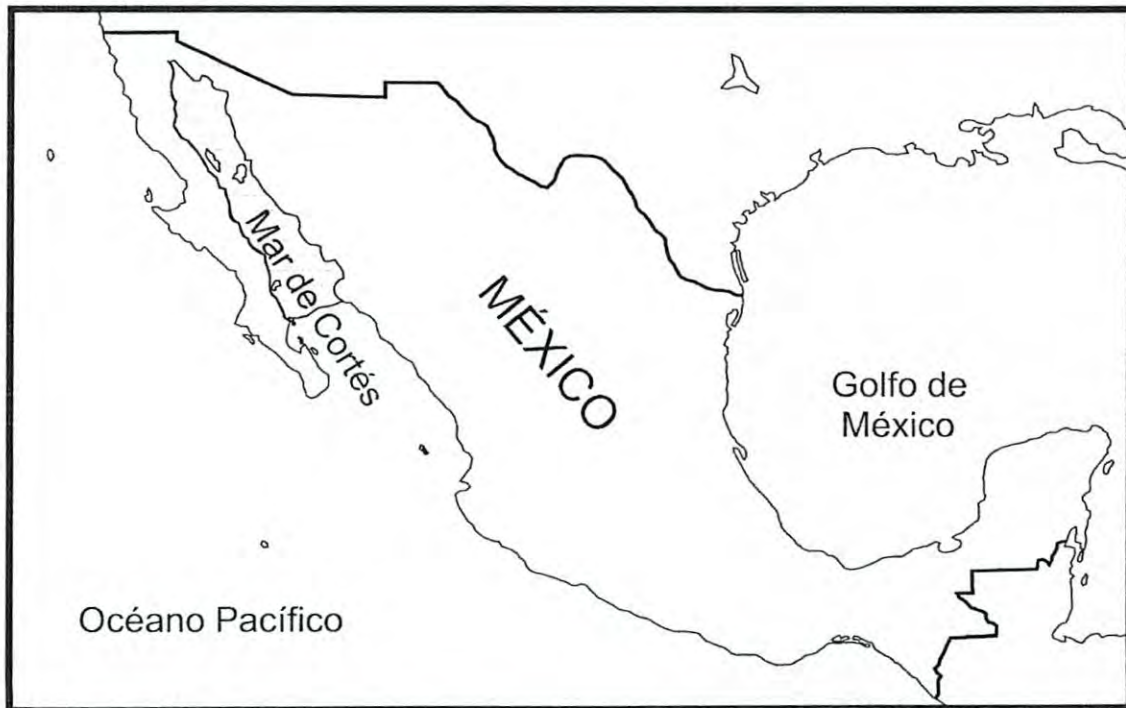


Figura 5. Distribución geográfica de la *T. macdonaldi*.

lo anterior, la especie es capturada durante 6 meses por pesca deportiva, lo que suele registrarse oficialmente como pesca incidental (Martínez-Delgado y Corona-García, 1992).

Según Pedrín-Osuna *et al.* (2001), existe la impresión generalizada de que las medidas de protección anteriormente citadas no han sido suficientes y/o no han tenido el efecto deseado; por lo que la problemática planteada inicialmente como de sobreexplotación debe de ser redefinida en los siguientes componentes:

- a) La pesca clandestina, cuya magnitud es imposible de precisar y documentar, sin embargo, se puede calcular con los decomisos de las redes totoaberas cada año. Molina-Valdez *et al.* (1998) han estimado un monto de 400 toneladas por temporada, la cual es una cifra muy alta si consideramos la temporada de enero a mayo.
- b) La forma y magnitud de la pesca camaronera en el alto Golfo de California, la cual afecta a otras especies que son atrapadas como fauna de acompañamiento, entre ellas la totoaba.

Actualmente el estatus de conservación continúa y se cataloga como una especie en alto peligro de extinción (SEMARNAT, 2010).

I.2.6. Cultivo

Siguiendo con las acciones de protección a la especie, la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca del Estado de Sonora (CONAPESCA) ha formulado un proyecto de cultivo de totoaba, que tiene como finalidad la recuperación total de las poblaciones de la especie en el medio natural mientras se aprovecha el recurso por medio de su cultivo.

La Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas, Unidad Ensenada, después de 15 años de trabajar con el ciclo reproductivo de la especie en cautiverio, logró los primeros resultados positivos en el año del 2008. Por primera vez lograron más de dos ciclos reproductivos consecutivos por hembra, esto es de gran importancia en la comprensión de su biología básica ya que esta especie era considerada como un reproductor anual. Se han obtenido alrededor de 2.5 millones de huevos fértiles por puesta de un total de nueve hembras, lo que ha permitido que se obtengan alrededor de 20,000 juveniles, de los

cuales, una parte será destinada para su repoblación al medio natural. Se han realizado pruebas experimentales en granjas de la región, y después de dos años, 150 organismos de totoaba han llegado a una talla de 50 cm y 2 kg de peso promedio. Sin embargo, este proyecto todavía se encuentra en fase experimental y aún quedan muchas interrogantes, una de ellas es la que envuelve aspectos de su nutrición en su etapa juvenil (SEMARNAT, 2010).

Entre los beneficios adicionales del cultivo de totoaba y su repoblamiento se puede mencionar el que la especie es sumamente apreciada en la pesca deportiva, pues puede alcanzar hasta dos metros de longitud y 100 kg de peso. Estas características han despertado el interés entre el sector ribereño en utilizar a la especie como trofeo en torneos de pesca deportiva en respuesta al importante auge turístico.

I.3. Requerimientos nutricionales de peces

Existen cinco grupos de nutrientes que constituyen los alimentos balanceados para acuicultura: proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, los cuales se abordan a continuación.

I.3.1. Proteína

El componente más importante y costoso dentro de la alimentación de peces es sin duda la proteína. Estas moléculas son el principal constituyente de tejidos y órganos del cuerpo animal, además de ser también constituyentes primordiales de enzimas y hormonas, entre otras sustancias de vital importancia. Por esta razón, debe de haber una constante aportación de proteína en la dieta para reparar tejidos dañados y para obtener buenas tasas de crecimiento (Watanabe, 1988; Lovell, 1998; Halver y Hardy, 2002).

I.3.2. Lípidos

Los lípidos son macromoléculas esenciales utilizadas por los peces para realizar diferentes funciones, por ejemplo, son utilizados como fuente de energía, son parte importante de las membranas celulares y ayudan a mantener su permeabilidad, ya que la fluidez de las membranas está regulada en parte por la acción de los ácidos grasos. Los requerimientos de lípidos en los peces varían con la especie, sin embargo, se ha demostrado que los

requerimientos para peces marinos y de aguas frías son mayores al de los peces dulceacuícolas y de aguas cálidas por lo que es un importante dato a conocer al realizar formulaciones específicas para las especies con potencial de cultivo (Watanabe, 1988; Lovell, 1998; Halver y Hardy, 2002).

1.3.3. Carbohidratos

Los peces en su hábitat natural consumen alimentos ricos en proteínas y escasos en carbohidratos y lípidos, por lo que han adaptado su metabolismo, para obtener energía principalmente de proteínas y no de carbohidratos, como es el caso de los vertebrados terrestres. Se ha observado que los peces carnívoros no asimilan los carbohidratos de una manera efectiva, por lo que las dietas con un alto contenido en este nutriente proporcionan bajas tasas de crecimiento del animal por disminución de la digestibilidad de otros nutrientes, pudiendo incluso provocar alteraciones metabólicas importantes. Sin embargo, no se deben de eliminar por completo los carbohidratos de la dieta puesto que su incorporación permite que las proteínas se asimilen mejor, pudiéndose lograr crecimientos similares en organismos alimentados con menores porcentajes de proteína dietaria. En acuicultura se busca que los peces utilicen la proteína exclusivamente para crecimiento y obtengan energía de los carbohidratos y lípidos de esta manera se optimizarán los costos de producción (Castelló, 2000).

1.3.4. Vitaminas

Las vitaminas son compuestos orgánicos necesarios para obtener un crecimiento normal y buena salud en los peces cultivados. Estos compuestos no son sintetizados por el cuerpo, por lo que se deben obtener de la dieta. Las vitaminas se dividen en dos grupos: las vitaminas hidrosolubles donde se incluyen las vitaminas B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, Inositol, ácido pantoténico, ácido fólico, colina, biotina y ácido ascórbico (vitamina C). Probablemente de las vitaminas hidrosolubles la vitamina C sea la más importante debido a su poderosa acción antioxidante, además de ayudar a fortalecer el sistema inmune en los peces. El otro grupo es el de las vitaminas liposolubles donde se incluyen las vitaminas A, D, E y K. De este grupo, la vitamina E es la que recibe mayor importancia gracias a su acción antioxidante. Cabe señalar que la deficiencia de cada una de las vitaminas produce cuadros clínicos específicos, sin embargo el

primer síntoma suele ser la reducción del crecimiento (Lovell, 1998; Halver y Hardy, 2002; Craig y Helfrich, 2009).

I.3.5 Minerales

Los minerales son elementos inorgánicos que deben ser obtenidos en la dieta para el funcionamiento normal del organismo. Se pueden dividir en dos grandes grupos, macro-minerales y micro-minerales, según la cantidad requerida en la dieta y la cantidad presente en el pez. Los macro-minerales más comunes son el sodio, el cloro, el potasio y el fósforo. Éstos se encargan principalmente de regular funciones como el balance osmótico además de ser auxiliares en el desarrollo y reparación del sistema óseo y se expresan como porcentaje en la dieta. Los micro-minerales son requeridos en pequeñas cantidades, se expresan en partes por millón y su función principal es la de ser componentes de enzimas y hormonas. Entre los más comunes se encuentran el cobre, el cromo, el iodo, el zinc y el selenio. Los peces tienen la capacidad de absorber muchos minerales directamente del agua a través de sus branquias y piel, permitiéndoles compensar algunas deficiencias dietarias (Lovell, 1998; Gillaume *et al.* 2001; Halver y Hardy, 2002).

I.4. Alimentos balanceados

El alimento balanceado utilizado en acuicultura es un tipo de alimento que satisface los requerimientos nutricionales de especies en cultivo. Cada especie tiene requerimientos nutricionales diferentes, por lo que los alimentos balanceados deben formularse para satisfacerlos y lograr así buenos resultados en crecimiento de los organismos. Para lograr determinar la cantidad de alimento balanceado y el tipo de alimento que se va administrar, es importante tomar en cuenta la productividad primaria del lugar de cultivo y la aportación de ciertos minerales, así se podrá seleccionar el tipo de alimento balanceado más conveniente. En acuicultura, los alimentos balanceados pueden ser del tipo complementario o completo. El alimento complementario es un alimento que se administra como suplemento a la productividad natural que se desarrolla en el medio donde se encuentran los organismos cultivados. Por otro lado, un alimento completo es aquel que no contempla el aporte nutrimental de la productividad primaria del lugar, por lo que el alimento debe estar formulado

para satisfacer completamente los requerimientos nutricionales. El aporte nutricional que tengan los alimentos balanceados depende en gran medida de la selección de los ingredientes, manejo y formulación, esto debe tomarse en cuenta para mantener la calidad del producto (Talavera, 1997; Francis-Floyd, 2002).

I.4.1. Harina de pescado

La harina de pescado es reconocida por los nutriólogos como un ingrediente de alta calidad en la elaboración de dietas para acuicultura por su alta digestibilidad, contenido energético, perfil proteico y lipídico, además de contener una gran variedad de vitaminas y minerales esenciales. La harina de pescado de alta calidad normalmente contiene entre el 60% y el 72% de proteína cruda, por lo que desde un punto de vista nutricional es el mejor suplemento para la formulación de dietas. Una dieta típica de peces puede contener de 32% a 45% de proteína cruda y una dieta para camarón puede contener de 25% a 42% de proteína cruda total. Los porcentajes de inclusión de harina de pescado van desde pequeñas cantidades como en las dietas para carpa y tilapia donde se utiliza el 5-7% hasta las dietas para trucha, salmón y peces marinos donde se utiliza el 40-55% (Miles y Chapman, 2011). Algunas de las ventajas de la utilización de este ingrediente en la elaboración de dietas son:

- Aumenta la eficiencia alimenticia y el crecimiento ya que el alimento tiene mejor palatabilidad, además de ser altamente digerible y fácilmente absorbida en el intestino de los organismos.
- La composición tan completa de aminoácidos hace que se pueda combinar con otros ingredientes, lo cual puede reducir costos de formulación.
- La harina de pescado de alta calidad proporciona una cantidad balanceada de aminoácidos esenciales, fosfolípidos, y ácidos grasos altamente insaturados, ej., ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) para un óptimo desarrollo principalmente en los estadios larvales y de madurez sexual.

I.5. Determinación del requerimiento de proteína en especies con potencial de cultivo

Un factor de vital importancia en la nutrición de peces marinos es la correcta determinación del requerimiento mínimo de proteína y de aminoácidos esenciales en las dietas

utilizadas para asegurar el adecuado crecimiento y salud del pez. Por otro lado, el administrar dietas con una excesiva cantidad de proteína es poco aconsejable desde el punto de vista de la rentabilidad de la actividad, ya que es el ingrediente más costoso del alimento y su exceso es considerado una importante fuente de contaminación para la zona costera. Se han realizado numerosos estudios en peces marinos con potencial de cultivo, incluso algunos ya cultivados comercialmente, donde se refieren amplios rangos para sus requerimientos proteicos (Gatlin, 2000). Estudios realizados por García-Ortega (2009) con el botete diana, *Sphoeroides anullatus* de un peso promedio de 7.6 g, señalan que los peces alimentados con una dieta que contenga el 61% de proteína cruda produce altos índices de crecimiento específico (SGR) y bajas tasas de conversión alimenticia (FCA). En estudios realizados por García-Ortega (2002) y Abdo-de la Parra *et al.* (2006), evaluaron el efecto de varios niveles de proteína, los cuales fueron desde el 30 al 60% de proteína cruda en la dieta para el botete diana, *S. anullatus* de un peso promedio de 19 g utilizando caseína y harina de pescado como fuente principal de proteína. Después de 8 semanas de experimentación, se determinó que la dieta para juveniles de botete diana de un peso promedio de 19 g deberá contener al menos 50% de proteína cruda. En el mismo estudio, se realizó un segundo experimento con juveniles de botete diana de un peso promedio de 19 g. donde se utilizaron dos dietas iso-nitrogenadas y aceite de bacalao a diferentes concentraciones. Después de 8 semanas de experimentación la dieta que contenía 5.6% de lípidos mostró los índices de crecimiento más grandes a comparación de la dieta que contenía el 9.5% de lípidos. Un alto porcentaje de proteína cruda, con valores superiores al 60% del total de la dieta fue reportado para la lobina Europea, *Dicentrarchus labrax*, aunque según los datos reportados por Ballestrazzi *et al.* (1996) con 44% de proteína se obtuvo una mayor retención de proteína en músculo. El jurel, *Seriola quinqueradiata*, (Shimeno, 1991) y el pargo, *Pagrus major* (Takeushi *et al.* 1991) mostraron tener altos requerimientos de proteína cruda en la dieta, por arriba del 50%. En estudios realizados por García-Ortega (2004), se evaluaron siete dietas iso-energéticas con diferente cantidad de proteína cruda, que iban desde el 30 hasta el 60% en peces pre-adultos de pargo lunerajo, *Lutjanus guttatus*, de un peso inicial promedio de 140.3 g. Después de 16 semanas de experimentación a una temperatura media de 25.5 °C, los resultados indicaron que los mejores índices de crecimiento se obtuvieron con las dietas que contenían niveles superiores al 40.7% de proteína cruda. En el mismo estudio se formularon cuatro dietas iso-nitrogenadas donde se varió la concentración de

lípidos, que iban desde 7.9 hasta 17.5% y fueron probados en organismos de pargo lunarejo de un peso inicial promedio de 144.7 g. Después de 10 semanas de experimentación, no se detectaron diferencias significativas en el crecimiento de los peces a una temperatura media de 29.4 °C. Por otro lado, en investigaciones realizadas sobre el pargo rojo, *L. campechanus* se ha determinado que el requerimiento de proteína cruda es de 32 a 44% (Miller *et al.* 2005), mientras que para el pargo de manglar *L. argentimaculatus* el requerimiento de proteína cruda es de 42.5-50% (Catacutan *et al.* 2001), y de 45% para *L. analis* (Watanabe *et al.* 2001). Por otro lado, la dorada, *Spaurus aurata*, (Sabaut y Luquet, 1973) y la corvina, *Sciaenops ocellatus*, mostraron tener un requerimiento de aproximadamente 40% (McGoogan y Gatlin, 1998).

Lo anterior, hace evidente la importancia que representa la formulación de alimentos con una adecuada cantidad de proteína, ya que de esto dependerá el desempeño biológico de los peces y la rentabilidad de la empresa.

I.6. Análisis de digestibilidad

Los análisis de digestibilidad de los alimentos balanceados utilizados en acuicultura son de suma importancia pues contribuyen al desarrollo de formulaciones de bajo costo y a la reducción del impacto sobre el ambiente. También ayudan a determinar el porcentaje de inclusión óptimo de un ingrediente en un alimento con base en la información recabada sobre su digestibilidad, esto permite la selección de mejores ingredientes para formular dietas (Romero y Manríquez, 1993), lo que repercute en una mejora general de la digestibilidad de alimento balanceado. Los experimentos dónde se determina de la digestibilidad aparente *in vivo* han sido los métodos más comúnmente utilizados para determinar la efectividad de una dieta o de un ingrediente. Aunque estos métodos son confiables y ampliamente aceptados, son métodos muy laboriosos y costosos que además requieren de mucho tiempo para la obtención de resultados (Lan y Pan, 1992). Ante la gran necesidad de contar con técnicas rápidas, económicas y sencillas para la determinación de la digestibilidad de nutrientes importantes como la proteína, se han desarrollado algunos métodos *in vitro* que permiten llevar a cabo en menor tiempo y de manera precisa la evaluación de su digestibilidad. Además estos tipos de análisis tienen el beneficio potencial de manejar un gran número de muestras a menor costo

con respecto a las pruebas *in vivo* (Mougan *et al.* 1989; Ezquerro *et al.* 1998). Lee y Lawrence (1997) sugirieron que los análisis *in vitro* podían ser utilizados basados en la evidencia preliminar de que estos producen un coeficiente de digestibilidad aparente similar a estudios *in vivo* previamente reportados. Existen distintas metodologías para evaluar la digestibilidad proteica *in vitro*, las cuales varían en cuanto a las condiciones de hidrólisis, las enzimas utilizadas y la forma de cuantificar los productos generados (Ezquerro-Brauer, 1997). La mayoría de estos métodos, tratan de reproducir el ambiente bioquímico y fisiológico (pH, temperatura, tiempo del compuesto en el intestino, secuencia enzimática) presente en el tracto gastrointestinal del organismo estudiado.

De lo anterior, resalta la importancia de realizar análisis de digestibilidad en la formulación de dietas para peces, ya que en conjunto con los estudios en campo, se pueden formular dietas ecológica y económicamente amigables.

II. HIPÓTESIS

El ambiente marino se caracteriza por tener una gran cantidad de proteína disponible por lo que los organismos consumen un alto porcentaje de este nutriente en la dieta. Algunos estudios con peces marinos que han sido evaluados como candidatos para cultivo han demostrado tener un requerimiento alto de proteína que va del 50 al 55% de proteína cruda total en la dieta administrada. Siendo la totoaba y el lenguado de Cortés peces marinos carnívoros que consumen una gran cantidad de proteína en el medio natural, se espera que el crecimiento de las dos especies esté determinado por la cantidad de proteína presente en las dietas formuladas.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Evaluar el crecimiento y supervivencia de *Paralichthys aestivalis* y *Totoaba macdonaldi* en respuesta a distintos niveles proteicos en la dieta.

III.2. Objetivos específicos

- a) Evaluar el crecimiento y supervivencia de *Paralichthys aestivalis* y *Totoaba macdonaldi* valorando su requerimiento proteico.
- b) Formular tres dietas experimentales con diferente porcentaje de inclusión de proteína cruda para evaluar el crecimiento de las especies en un sistema de recirculación.
- c) Comparar el crecimiento obtenido con las dietas experimentales con una dieta comercial para peces marinos.
- d) Determinar la tasa de supervivencia después de un periodo de engorda en condiciones de laboratorio para ambas especies.
- e) Evaluar el grado de hidrólisis (%) ácido y básico de las dietas experimentales.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Obtención de los organismos experimentales

Lenguado de Cortés

Antes de iniciar la captura se realizó un convenio con el Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora (IAES) para facilitarnos el extraer organismos del medio natural. Una vez firmado dicho convenio se dio inicio a la captura. Los organismos fueron capturados en el periodo de una semana en una zona conocida como Santa Rosa, ubicada a 140 km al noroeste de la ciudad de Hermosillo (paralelos 28° 58' y 28° 59' de latitud norte y entre los meridianos 112° 10' y 112° 09' de longitud oeste), mediante las artes de pesca de arrastre y atarraya. Se capturaron un total de 96 organismos de un peso y longitud promedio de 72.038 ± 23.495 g y 180.812 ± 22.771 mm, respectivamente. Los organismos se transportaron por tierra a la UEK en una hielera con agua de mar y aireación constante. Una vez aclimatados, se les ofreció alimento comercial exclusivo para peces marinos con el fin de acostumarlos al alimento balanceado.

Totoaba

Pesquera Delly, S.A. de C.V. donó un total de 120 juveniles de totoaba procedentes de cultivo en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), con un peso y talla promedio de 74.696 ± 5.251 g y 196.216 ± 4.911 mm, respectivamente. Los organismos se encontraban resguardados en el Centro de Reproducción de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES) ubicado en Bahía de Kino, Sonora y fueron transportados a la UEK en un contenedor con agua de mar y aireación constante.

IV.2. Recepción y aclimatación

Los peces fueron aclimatados a las condiciones del Laboratorio Húmedo de Nutrición y Biotecnología Acuícola ubicado en la Unidad Experimental Kino (UEK) del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), a una temperatura de 25°C. Para la aclimatación se agregó agua del sistema experimental al

contenedor para elevar la temperatura del agua a razón de un grado centígrado por hora hasta lograr la misma temperatura. Posteriormente se transfirieron los organismos al sistema experimental.

IV.3. Sistemas experimentales

Se llevó a cabo un experimento con duración de 56 días (8 semanas) con juveniles de totoaba y lenguado de Cortés, en el laboratorio húmedo de Nutrición y Biotecnología Acuícola (UEK). El trabajo se llevó a cabo en dos sistemas de recirculación independientes, M_1 y M_2 , cada uno constituido por 24 tanques de 250 L de capacidad, los cuales, se llenaron con 200 L de agua de mar filtrada extraída de la bahía, la cual recirculó través de un sistema de filtrado constituido por un filtro de arena, un filtro de cartucho 50 μm , un filtro biológico y luz UV. Se suministró aireación constante en cada uno de los tanques experimentales por medio de una piedra difusora de aire, conectada a un soplador de 1 HP. Se realizó un recambio diario de agua del sistema del 10%, y de 50% semanalmente, para mantener los niveles óptimos de calidad de agua. Cada tratamiento experimental contó con 6 replicas donde se evaluaron los parámetros de crecimiento descritos más adelante.

IV.4. Siembra

El lenguado de Cortés se sembró en el sistema experimental M_1 a una razón de 4 organismos por tanque, mientras que los juveniles de totoaba se sembraron en el sistema experimental M_2 a una razón de 5 organismos por tanque, es decir, 20 organismos por m^3 en el caso de los lenguados y 25 organismos por m^3 en el caso de las totoabas.

IV.5. Tratamientos experimentales

Se elaboraron 3 dietas experimentales completas, iso-lipídicas y con variación en el nivel de proteína cruda (PC), 47%, 52% y 55% (Tabla I). Adicionalmente las dietas experimentales se compararon con una dieta comercial para peces marinos con 38.6% de PC, que fungió como un control experimental externo. La asignación de los tratamientos a evaluar se realizó completamente al azar.

Los parámetros de producción analizados en este estudio fueron: peso inicial, peso final, peso ganado (expresado en gramos y también como % del peso inicial), longitud total inicial,

Tabla 1.- Ingredientes y porcentaje utilizado en la formulación de las dietas experimentales para *P. aestuarius* y *T. macdonaldi*.

Ingredientes	Dieta 1(%)	Dieta 2(%)	Dieta 3(%)
Harina de pescado	39.40	44.90	50.20
Harina de calamar	10.00	10.00	10.00
Concentrado de soya	14.60	18.30	22.22
Harina de trigo	28.85	20.08	11.27
Aceite de pescado	3.30	3.30	3.30
Aceite de soya	1.30	0.87	0.46
Premezcla de minerales	0.25	0.25	0.25
Premezcla de vitaminas sin colina	0.50	0.50	0.50
Cloruro de Colina	0.20	0.20	0.20
Vitamina C 35%	0.100	0.100	0.100
Lecitina de soya	1.50	1.50	1.50
Total (%)	100.00	100.00	100.00

longitud total final, longitud estándar inicial, longitud estándar final, supervivencia, tasa de crecimiento específico (TCE; %/día) = $100 \times (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{días de tratamiento}$, factor de conversión alimenticia (FCA) = gramos de alimento consumido/gramos de peso ganado, Tasa de eficiencia proteica (TEP) = gramos de proteína consumida/gramos peso ganado, índice hepatosomático (IHS) = (peso hígado/peso corporal) x 100, y el factor de condición (K) = (peso x 100)/longitud³.

IV.6. Análisis biométrico

Los análisis biométricos fueron realizados al inicio, a las seis semanas y al final del experimento, en la semana ocho. Para ello, se extrajeron todos los organismos de cada uno de los tanques con ayuda de una red de mano y se colocaron en un recipiente con agua de mar proveniente del sistema experimental. Posteriormente se pesó cada uno de los peces en una

balanza analítica y se midieron con ayuda de una regla. Una vez terminada la toma de datos, los organismos fueron regresados a su tanque correspondiente.

IV.7. Calidad de agua

Durante el experimento se realizaron mediciones diarias de las variables fisicoquímicas del agua en los tanques reservorios de cada uno de los sistemas experimentales, antes de la primera alimentación (8:00 am). La temperatura ($^{\circ}\text{C}$), el oxígeno disuelto (mg/L) y la salinidad (‰) se midieron diariamente con un oxímetro (YSI modelo 51B); mientras que el pH fue medido con un potenciómetro Pint-Point con precisión de 0.01. Semanalmente se recolectaron muestras de agua de cada uno de los sistemas experimentales para la determinación de nitrógeno amoniacal total ($\text{NH}_4\text{-N}$), nitritos-N ($\text{NO}_2\text{-N}$) y nitratos-N ($\text{NO}_3\text{-N}$); las muestras fueron debidamente etiquetadas y congeladas hasta el momento de su análisis.

Nitrógeno amoniacal total ($\text{NH}_4\text{-N}$)

Se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Solórzano (1969) y Spotte (1979a, b). Se preparó una solución de trabajo con sulfato de amonio a partir de la cual se prepararon estándares de concentraciones conocidas. Las muestras de agua del sistema experimental y estándares fueron sometidos a una reacción colorimétrica adicionando por igual diversos reactivos descritos en la técnica analítica, se esperó un tiempo de reacción de una hora, y posteriormente se procedió a leer en un espectrofotómetro (Beckman, DU 640) a 640 nm).

Nitritos-N ($\text{NO}_2\text{-N}$)

Se siguió el método descrito por Spotte (1979a, b) y Strickland y Parsons (1972). Esta determinación consiste también en obtener una reacción colorimétrica de las muestras de agua y los estándares al someterlos a varias reacciones químicas con diversos reactivos. La solución de trabajo de nitrito de sodio se utiliza para la preparación de estándares de concentraciones conocidas de $\text{NO}_2\text{-N}$; después de agregar los reactivos se espera 10 minutos para que ocurra la reacción y se leyó en el espectrofotómetro a 543 nm.

Nitratos-N (NO₃-N)

El nitrato se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Spotte (1979a, b) y Mullen y Riley (1955). Al igual que la determinación de amonio y nitritos, se utiliza una solución de trabajo de nitrato de sodio para hacer estándares de concentraciones conocidas. Tanto a los estándares como a las muestras de agua se le agregan diversos reactivos en dos fases, la primera con un tiempo de reacción de 24 horas y la segunda con un tiempo de reacción de 10 minutos, después de los cuales se leyó en el espectrofotómetro a 543 nm.

IV.8. Análisis proximal de las dietas experimentales

IV.8.1. Determinación de humedad

Para la determinación de la humedad se siguió el método 930.15 de la AOAC (2005). Se pesaron con exactitud 2g de muestra utilizando una balanza analítica (Precisa, Mod. XT 220 A). Posteriormente se colocaron en un horno de secado (Terlab, Mod. 12554) a 105°C y se secaron durante 4 h. La muestra se retiró de la estufa y se dejó enfriar en un desecador durante 40 min. Por último, la muestra seca se pesó en una balanza analítica y el porcentaje de humedad se cálculo de la siguiente manera:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{peso crisol+muestra húmeda}-\text{peso crisol} + \text{muestra seca}}{\text{Peso de muestra húmeda}} \times 100$$

IV.8.2. Determinación de Cenizas

Para la determinación de cenizas se utilizó el método 942.05 de la AOAC (2005). Se pesaron 5 g de muestra sólida proveniente del material residual de la determinación de humedad en una balanza analítica y se colocaron en una cápsula de porcelana previamente puesta a peso constante a 600 °C. La muestra se incineró en una mufla (Thermolyne 6000, Mod. F6028C, Dubuque, Iowa, USA) a 600 °C durante 5 h. La cápsula se retiró y se colocó durante 30 minutos en la estufa a 100 °C, luego se enfrió en un desecador durante 40 min y finalmente se pesó. El porcentaje de cenizas se cálculo de la siguiente manera:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso crisol con cenizas}-\text{Peso crisol vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

IV.8.3. Determinación de proteína cruda

Se siguió la metodología descrita por la AOAC (2005) método 976.05.

- 1) Digestión: se pesaron 0.05 g a 0.1 g de muestra utilizando una balanza analítica y se colocaron en los tubos de digestión Kjeldahl. Se pesó aproximadamente 0.1 g de EDTA, cuyo contenido de nitrógeno es conocido por lo que se usó como estándar colocándose en un tubo de digestión independiente. Se adicionó a cada uno de los tubos 1.6 g de catalizador y 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. Una vez que el digestor (Foss Kjeltex, Mod. 2040, Hoganas, Sweden) alcanzó los 400 °C, los tubos con muestras se colocaron para su digestión, hasta que la muestra se tornó verde cristalina, indicando el término de la digestión.
- 2) Destilación: los recipientes del destilador automático (Foss Kjeltex, Mod. 2300, Hoganas, Sweden) contenían agua destilada, solución receptora (ácido bórico 1 %), álcali y ácido para su titulación (ácido clorhídrico 0.1 N). El lavado del sistema se realizó por medio de la inyección de vapor. Se destiló un blanco (10 mL de agua destilada), posteriormente el estándar (EDTA) y después las muestras. El destilador automático agregó 20 mL de NaOH y 10 mL de agua al estándar y a la muestra, simultáneamente agregó 30 mL de ácido bórico al 1% y unas gotas del indicador verde de bromocresol-rojo de metilo en el recipiente receptor de la destilación y tituló con HCL 0.1 N. El porcentaje de nitrógeno y de proteína cruda se calcularon de la siguiente manera:

$$\% \text{ Nitrógeno} = (V_1 - V_0) \times N \times 0.014 / \text{g de muestra} \times 100$$

$$\% \text{ Proteína Cruda} = (\%N) \times \text{Factor } 6.25$$

Donde:

V_1 = Mililitros de HCl gastados en la titulación de la muestra

V_2 = Mililitros de HCl gastados en la titulación del blanco

N = Normalidad del HCl = 0.05

g = Peso de la muestra en gramos

0.014 = Mili-equivalentes del HCl

IV.8.4. Determinación de la grasa cruda

Se realizó siguiendo el método 2003.05 de la AOAC (2005). Se pesaron de 1 a 2 g de muestra en una balanza analítica. El equipo (Soxtex, Mod. 2050, AVANTI, Hoganas, Sweden) se programó y la muestra se colocó en vasos de aluminio de peso constante, a lo que se agregaron 80 mL de éter de petróleo. El programa de 70 min, consta de 15 min. de inmersión, 40min. de goteo de solvente, 10 de recuperación del solvente, y 5 min. de pre-secado. Una vez terminada la extracción, los vasos se colocaron en la campana de extracción durante 5-10 min. para evaporar el solvente remanente, luego en la estufa a 103 °C durante 2 h, posteriormente en el desecador 30 min. para que enfriaran y finalmente se pesaron. Mediante la siguiente fórmula se calculó el porcentaje de lípidos de la muestra:

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{\text{Peso del vaso} + \text{lípidos extraídos} - \text{peso del vaso vacío}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

IV.8.5. Determinación de fibra cruda

La determinación de fibra cruda se realizó según el método 978.10 de la AOAC (2005), pesando 1 g de muestra previamente desgrasada en un crisol de extracción en una balanza analítica utilizando lo que queda después de desengrasar la muestra en el Soxtec. Los crisoles se colocaron en el equipo (Fibertec, Foss Tecator, Mod. 1020, Hoganas, Sweden) equipado con refrigerante. El H₂SO₄ al 1.25% (0.255 N) se calentó hasta ebullición y se agregaron 150 mL a cada crisol y 5 gotas de octanol (antiespumante), dejándose hervir por 30 min. con la bomba de recirculación de agua conectada, luego la temperatura se bajó a 0°C y se conectó la bomba de vacío. Inmediatamente se inició el filtrado de los 6 crisoles, que luego se enjuagaron con 50 mL de agua destilada caliente haciendo 3 lavados y filtrado. El NaOH 1.25% (0.255 N) se calentó a ebullición y se agregaron 150 mL a cada crisol y 5 gotas de octanol (antiespumante). Se repitieron los lavados con agua destilada y posteriormente se hizo un lavado con 50 mL de alcohol y se filtró. Los crisoles se secaron en la estufa a 130°C por 2h, se enfriaron 20 min. en el desecador y se pesaron, luego se colocaron en la mufla (Modelo F6028C, Thermolyne 6000, Dubuque, Iowa, USA) a 520°C por 30 min. y en la estufa a 130°C por 20 min. Finalmente, se dejaron enfriar 20 min. en el desecador y se pesaron. El cálculo del porcentaje de fibra cruda se realizó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = (Pcs - Pcc) / m \times 100$$

Donde:

Pcs = Peso en gramos del crisol a 130°C

Pcc = Peso en gramos del crisol más cenizas

M = Peso en gramos de la muestra

Nota: para conocer el valor real del % de fibra cruda en la muestra fue necesario conocer el porcentaje de lípidos y el porcentaje de humedad de la muestra. Los valores se sumaron, se igualó a 100, y el porcentaje preliminar de la fibra, "B", se usa para hacer la correlación mediante una ecuación comúnmente llamada regla de 3, donde X = valor real del porcentaje de fibra cruda:

$$A \text{-----} 100$$

$$X \text{-----} B$$

IV.9. Grado de hidrólisis de las dietas

Los peces se mantuvieron en hielo desde su cosecha hasta antes del proceso de extracción de los intestinos. Posteriormente se extrajo el intestino y el estómago de ambas especies, los cuales fueron lavados con agua destilada. Posteriormente se homogenizó cada uno de los tejidos en una relación 1:2 (peso:volumen). Para realizar la homogenización se utilizó un homogenizador de tejidos donde se colocó la muestra durante un minuto y posteriormente se sonicó durante dos minutos para asegurar la completa remoción del tejido y extracción de los extractos enzimáticos. El homogenizado se centrifugó a 14,000 rpm por 30 min a 4°C. Una vez centrifugado, se tomó el sobrenadante y se almacenó a -80°C hasta su utilización.

IV.9.1. Análisis de actividad enzimática

Inicialmente se realizó una cuantificación de proteínas por el método de Bradford (1976) del homogenizado perteneciente al tejido intestinal y estomacal de ambas especies.

Intestino

Para realizar la determinación de proteasas alcalinas en el intestino se utilizó como sustrato caseína (Kunitz, 1949). Para ello, se tomaron 20 μ l del extracto crudo de intestino de ambas especies y se agregaron a un tubo conteniendo 1.5 ml de caseína al 0.5% y 0.5 ml de buffer Tris-HCL 50 mM a un pH de 9.0.

Estómago

Para llevar a cabo la determinación de la actividad enzimática de las enzimas proteolíticas estomacales se utilizó como sustrato hemoglobina. Para ello, se tomaron 20 μ l del extracto crudo del estómago de ambas especies y se agregaron a un tubo conteniendo 1.5 ml de hemoglobina y 0.5 ml glicina-HCl buffer (pH 2). Se dejó correr la reacción por 30 min a 37°C. Transcurrido ese tiempo se agregaron 0.5 ml de TCA al 20% para detener la reacción. Se centrifugó y se leyó la absorbancia a 280 nm.

IV.9.2. Ensayos de hidrólisis básica

Cada una de las dietas se pulverizó y se pesó en una balanza; adicionalmente se calculó para que cada una de las dietas contuviera 10 mg de proteína. Posteriormente se le agregaron 100 ml de buffer Tris-HCL 50 mM (pH 9) y se agitó la muestra durante 15 min. Para llevar a cabo el análisis, se pipetearon 10 ml de cada una de las dietas experimentales a un tubo de ensayo de 50 ml. Adicionalmente se utilizó un sistema de proteasas alcalinas de Tripsina-Quimiotripsina-alcalina como control. Para dar inicio a la reacción se agregó 1 ml de solución de intestino a cada uno de los tubos con cada una de las dietas. La solución digestiva se mantuvo a una temperatura constante de 37°C y bajo continua agitación utilizando un baño de tejido con movimiento y con un agitador magnético. La solución se dejó reaccionar durante 90 min y cada ensayo se realizó por triplicado.

IV.9.3. Ensayos de hidrólisis ácida

Para llevar a cabo el análisis, se agregaron 100 ml de buffer de glicina-HCl (pH 2) a cada una de las dietas experimentales. Posteriormente, se pipetearon 10 ml de cada una de las dietas experimentales a tubos de ensayo de 50 ml. Adicionalmente, se utilizó hemoglobina como

sustrato y una solución de pepsina como control. Para dar inicio a la reacción se agregó 1 ml de extracto estomacal. La solución digestiva se mantuvo a una temperatura constante de 37°C y bajo continua agitación utilizando un baño de tejido con movimiento y con un agitador magnético. La solución se dejó reaccionar durante 90 min y cada ensayo se realizó por triplicado.

Nota: Los ensayos de hidrólisis también se realizaron utilizando un sistema multienzimático consistente en tripsina, quimotripsina, aminopeptidasa y proteasa bacteriana. Para esto se pesaron 1.6 mg/ml de tripsina, 3.1 mg/mL de quimotripsina, 1.3 ng/ml de aminopeptidasa y 7.95 mg/ml de la proteasa bacteriana, se mezclan en el buffer TRIS-HCL 50 mM a pH 9.0 y se siguió el procedimiento exactamente igual a lo antes descrito para llevar a cabo la hidrólisis de las muestras.

IV.9.4. Medición del grado de hidrólisis

Para la determinación de grado de hidrólisis se utilizó un estándar de serina debido a que muestra una respuesta similar promedio de los demás aminoácidos presentes en la mayoría de las proteínas. Los reactivos se prepararon al momento de su uso, ya que son muy inestables.

Reactivo de OPA: Disolver 7.620 g de tetraborato sódico decahidratado y 200 mg de dodecil sulfato de sodio (SDS) en 150 ml de agua deionizada. Por otro lado se pesó 160 mg de OPA al 97%, se molió y disolvió en 4mL de etanol, después se transfirió a la solución antes preparada; posteriormente se agregó 176 mg de ditiotreitól (DTT). La solución se llevó a un volumen de 200mL. El estándar se preparó pesando 10 mg del aminoácidos en 100 mL de agua desionizada.

Procedimiento de análisis:

Tubos para el análisis: Consistió en cuadruplicados de estándar (serina), blanco (agua) y muestra (hidrolizado). A cada tubo de ensaye se le agregaron 3 ml de reactivo de OPA más 400 µL de la muestra, del blanco o del estándar, se mezclaron por 5 s en un vortex y después de dos min se realizó la medición de la absorbancia a 340 nm en un espectrofotómetro. El grado de hidrólisis (GH) se define como la ruptura de los enlaces peptídicos (h) y el número

de enlaces peptídicos por unidad de masa (h_{hot}). Se utilizó la siguiente fórmula de acuerdo a Adler-Nissen (1986)

Cálculos:

Determinación de h:

$$aa \text{ NH}_2 = \frac{OD_{\text{muestra}} - OD_{\text{blanco}}}{OD_{\text{estándar}} - OD_{\text{blanco}}} \times 0.9516 \frac{\text{meqv}}{\text{L}} \times \frac{0.1 - 100}{X \times P} \text{L/g proteína}$$

Donde:

serina-NH₂ = meqv de serina-NH₂ / g proteína

X = μ L de muestra

P = porcentaje de proteína en la muestra

0.1 = volumen de la muestra en 1 litro

Por lo tanto h:

$$h = \frac{\text{serina-NH}_2 - \beta}{\alpha} \times \frac{\text{meqv}}{\text{g proteína}}$$

Determinación de grado de hidrólisis:

$$\text{GH (\%)} = \frac{h}{h_{hot}} \times 100$$

Donde α , β y h_{hot} son constantes. En el caso de pescado α , β y h_{hot} son 1.00, 0.40 y 8.6 respectivamente para la harina de pescado.

IV.10. Índice hepatosomático y factor de condición

Para determinar el índice hepatosomático se extrajeron tres individuos de cada tratamiento y se pesaron, posteriormente a cada uno se le extrajo el hígado y se pesó en una balanza analítica modelo Hohaus Explorer. El índice hepatosomático (IHS) se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IHS} = W \text{ hígado} / W \text{ corporal} \times 100$$

Donde:

W= Peso en gramos

En peces, el factor de condición (K) expresa la relación volumétrica en función del peso. Dicho factor puede indicar el estado nutritivo de los organismos y, en cultivo, es útil para comparar y cuantificar numéricamente la condición o estado en que el pez se encuentra pudiendo asociarse a una valoración de la contextura o estado de delgadez o gordura. Se determinó según la siguiente expresión matemática:

$$K = P \times 100 / L^3$$

Donde:

P = Peso en gramos

L = Longitud en cm

IV.11. Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS) para Windows V8, con el cual se realizaron análisis de normalidad y pruebas de ANOVA de una vía para los parámetros de producción y de calidad de agua evaluados. Los valores descritos en porcentaje fueron transformados a arco seno de la raíz cuadrada antes de realizar el análisis estadístico. Se utilizó la prueba de Duncan como separador de medias ($P \leq 0.05$) (Zar, 1999), donde los valores de $P \leq 0.05$ indican diferencias estadísticas entre los tratamientos experimentales y valores de $P \geq 0.05$ indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos experimentales.

V. RESULTADOS

V.1. Análisis proximal de las dietas experimentales

El análisis proximal de las dietas experimentales resultó en valores muy precisos de proteína y grasa cruda de acuerdo a las formulaciones originales (Tabla I).

La tabla 2 muestra la composición proximal de las dietas experimentales y la dieta comercial que se utilizó como control externo al diseño experimental, cuyos datos no fueron incluidos en el análisis estadístico de las variables analizadas.

Tabla 2.- Composición proximal de las dietas experimentales y comercial.

Composición Proximal	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Comercial
Proteína cruda (%)	47.24	52.12	54.92	38.61
Grasa cruda (%)	8.13	7.95	8.12	7.13
Fibra cruda (%)	1.14	1.16	1.46	1.77
Cenizas (%)	8.42	9.21	10.6	11.4
Humedad (%)	4.57	4.69	4.66	6.25
ELN* (%)	30.5	24.87	20.24	34.84

*ELN: extracto libre de nitrógeno: $ELN=100 - (\% \text{ Proteína cruda} + \% \text{ Lípidos totales} + \% \text{ fibra} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ humedad})$.

V.2. Calidad de agua

V.2.1. Oxígeno disuelto

El valor promedio de la concentración de oxígeno disuelto para el sistema M_1 fue de 4.06 ± 0.44 mg/L. El valor mínimo se presentó en el día 48 donde alcanzó un valor de 3.46 mg/L mientras que el valor máximo se presentó en el día 56 con un valor de 4.88 mg/L (Fig. 6). En el sistema M_2 el valor promedio de la concentración de oxígeno disuelto fue de 3.50 ± 0.34 . El valor mínimo se presentó en el día 18 con un valor de 3.0 mg/L; mientras que el valor máximo se presentó el día 3 donde alcanzó un valor de 4.37 mg/L (Fig7).

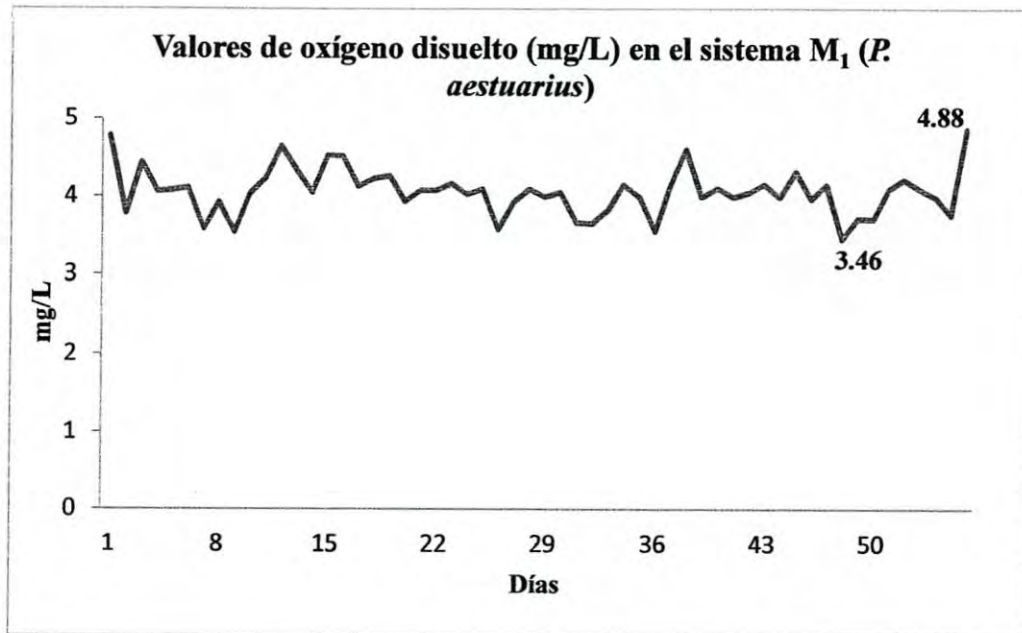


Fig.6. Concentración de oxígeno disuelto en el sistema M₁ durante el periodo experimental.

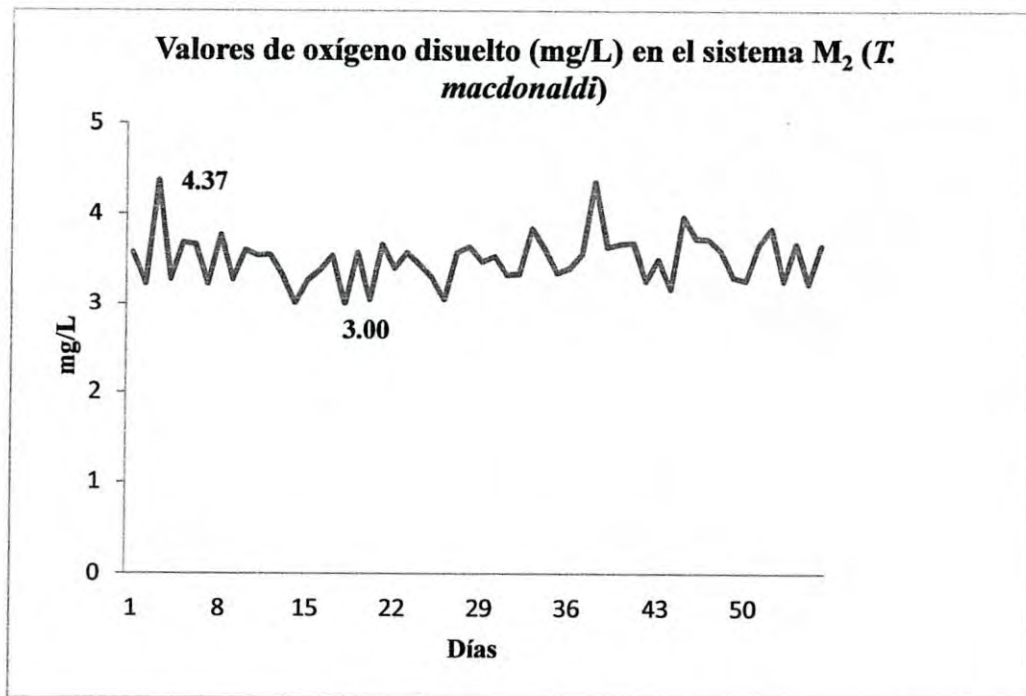


Fig.7. Concentración de oxígeno disuelto en el sistema M₂ durante el periodo experimental.

V.2.2. Temperatura

El valor promedio de temperatura para el sistema M₁ fue de 28.47°C ± 1.36. El valor mínimo se registró en dos días diferentes y fue de 26.4°C, mientras que el valor máximo se presentó en el día 48 con un valor de 32.4°C (Fig. 8). En el sistema M₂ el valor promedio de la temperatura fue de 28.44°C ± 1.39. El valor mínimo se presentó en el día 12 donde alcanzó un valor de 26.4°C, mientras que el valor máximo se presentó el día 49 donde alcanzó un valor de 32.3°C (Fig. 9).

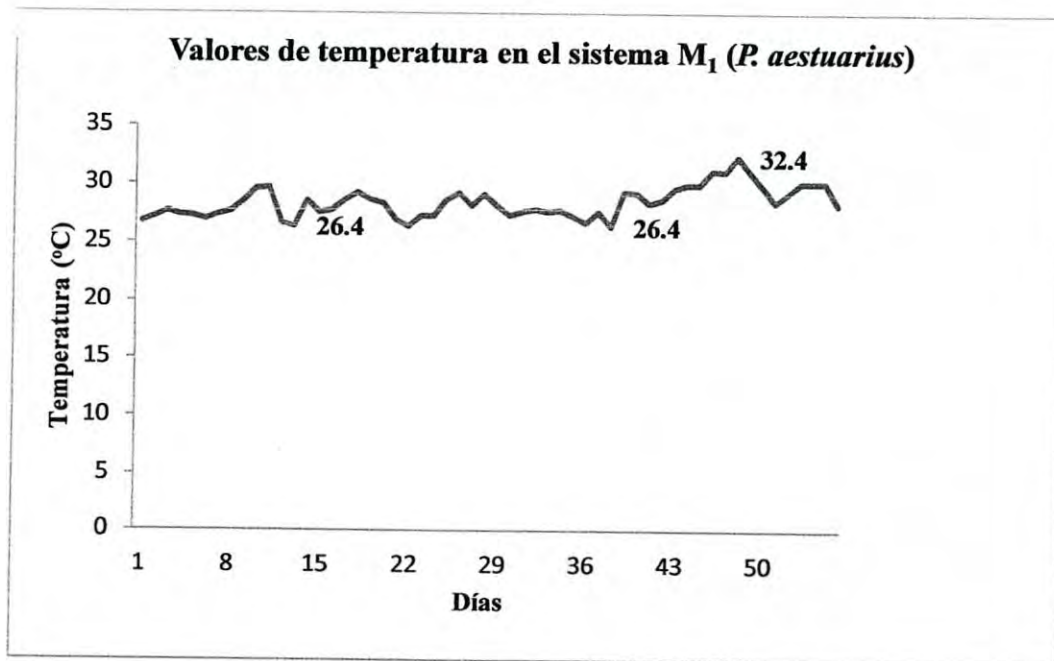


Fig.8. Temperatura registrada en el sistema M₁ durante el periodo experimental.

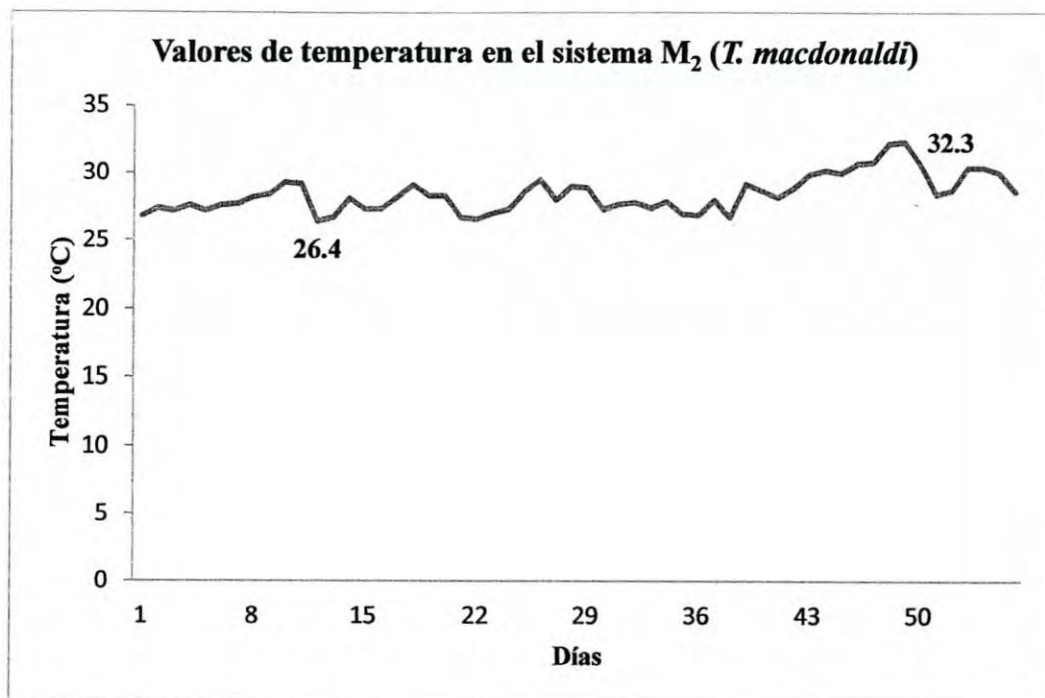


Fig.9. Temperatura registrada en el sistema M₂ durante el periodo experimental.

V.2.3. pH

El valor promedio de pH para el sistema M₁ fue de 7.86 ± 0.05 . Los valores de pH se mantuvieron muy constantes en el sistema a lo largo del experimento y oscilaron entre 7.8 y 8.0 (Fig. 10). En el sistema M₂ el valor promedio de pH fue de 7.83 ± 0.09 . Los valores de pH en este sistema también se mantuvieron muy constantes y, de igual manera, oscilaron entre 7.8 y 8.0 (Fig. 11).

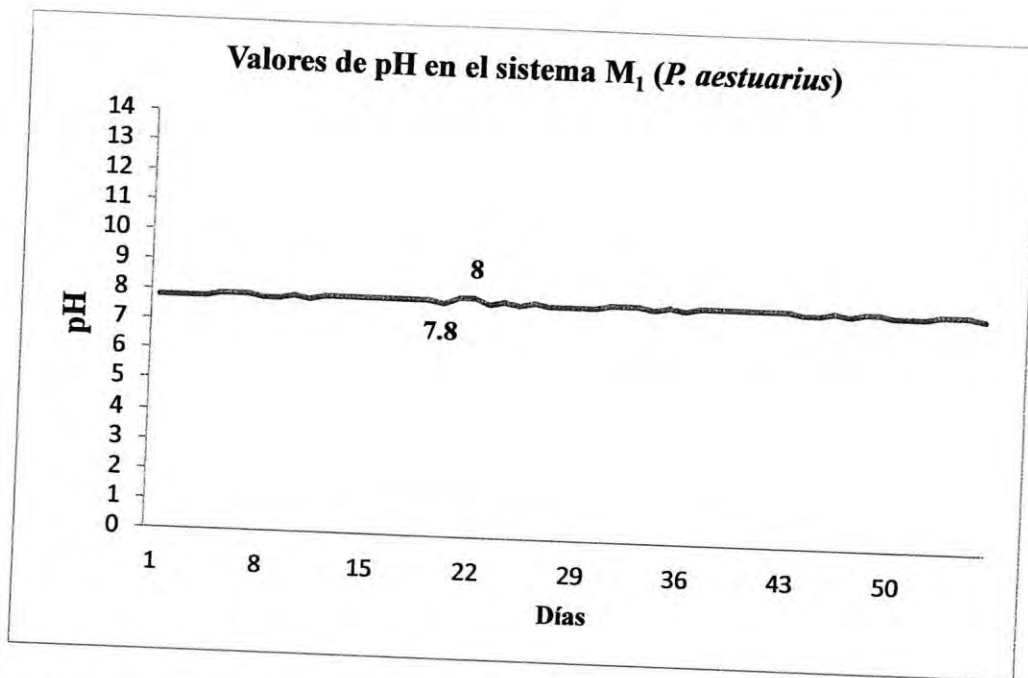


Fig.10. Valores de pH en el sistema M₁ registrados durante el periodo experimental.

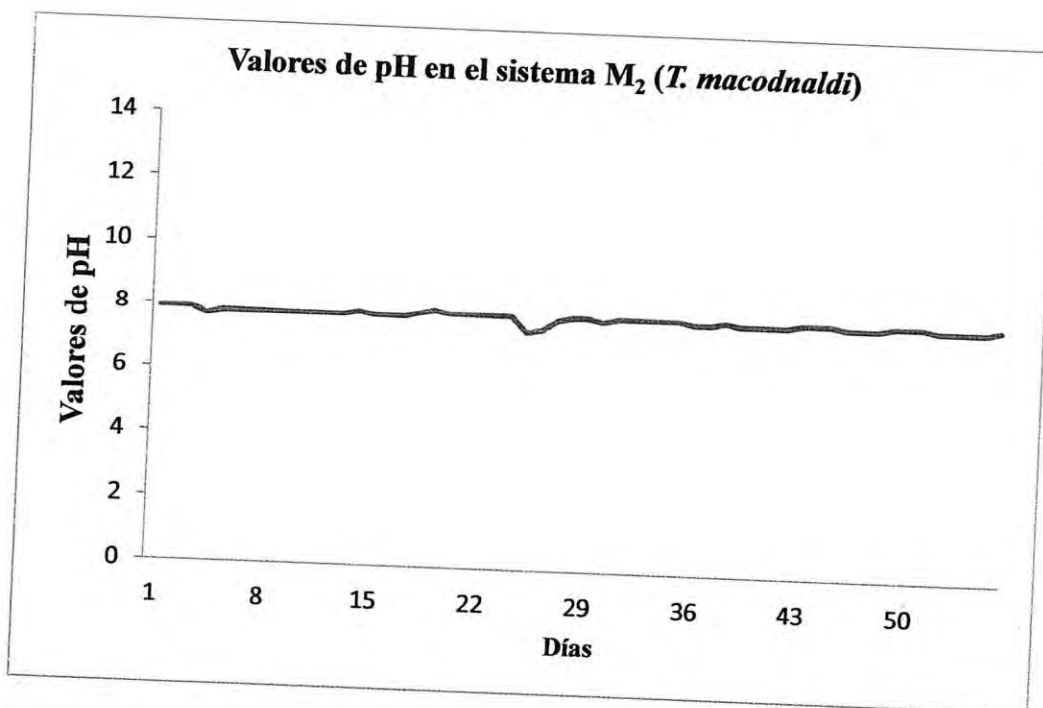


Fig.11. Valores de pH en el sistema M₂ registrados durante el periodo experimental.

V.2.4. Salinidad

El valor promedio de salinidad para el sistema M₁ fue de 37.22 ± 1.03 ‰. Los valores de salinidad se mantuvieron muy constantes en el sistema a lo largo del experimento y oscilaron entre 34.2 en el día 47 y 38.6 ‰ en el día 40 (Fig. 12). En el sistema M₂ el valor promedio fue de 38.0 ± 0.87 ‰. Los valores en el sistema oscilaron entre 35.3 ‰ registrado el primer día del experimento y 39.7 ‰ registrado el día 50 del experimento (Fig. 13).

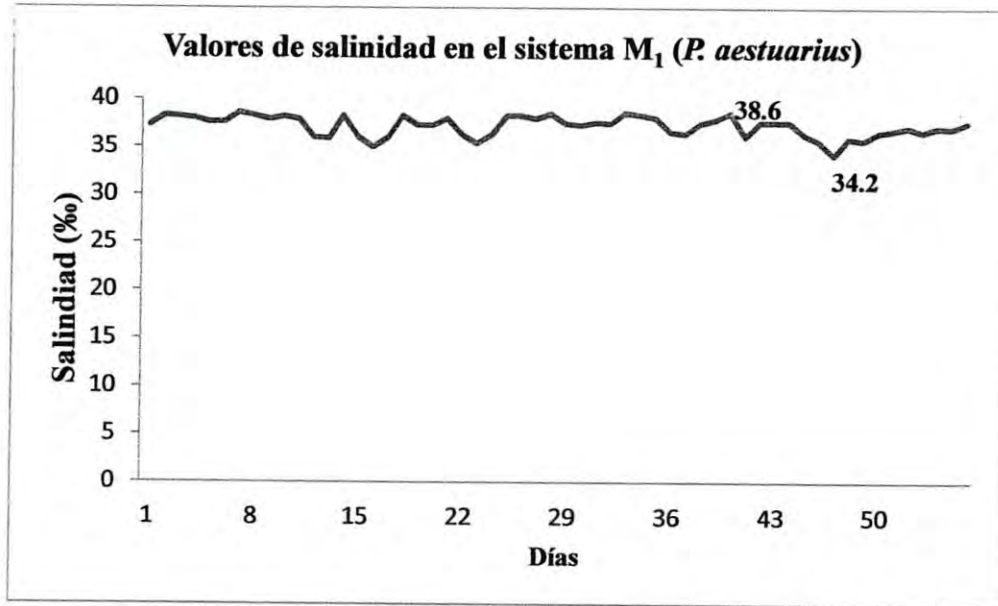


Fig.12. Valores de salinidad registrados en el sistema M₁ durante el periodo experimental.

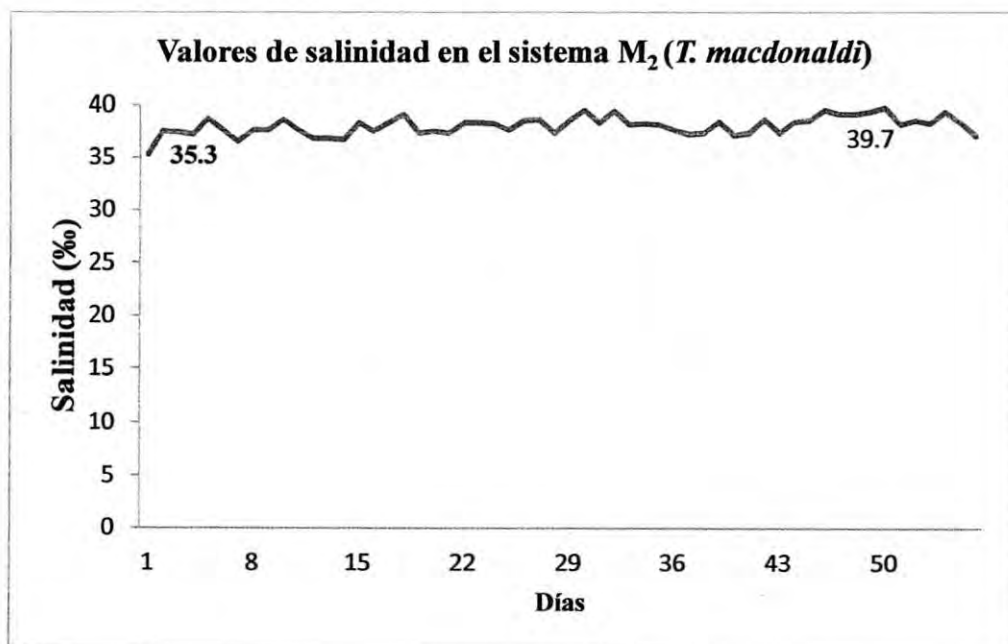


Fig.13. Valores de salinidad registrados en el sistema M₂ durante el periodo experimental.

V.2.5. Nitrógeno amoniacal total-N (mg NH₄-N)

El valor promedio de nitrógeno amoniacal total para el sistema M₁ fue de 0.17 ± 0.13 mg NH₄-N/L. El valor mínimo se presentó en la muestra del día 14 de junio con un valor de 0.006 mg NH₄-N/L, mientras que el valor máximo se presentó en la muestra del día 25 de mayo donde alcanzó un valor de 0.424 mg NH₄-N/L (Fig. 14). En el sistema M₂ el valor promedio de nitrógeno amoniacal total fue de 0.41 ± 0.33 mg NH₄-N/L. El valor mínimo se presentó en la muestra del 14 de junio con un valor de 0.110 mg NH₄-N/L, mientras que el valor máximo se presentó en la muestra del 07 de junio donde alcanzó un valor de 0.996 mg NH₄-N/L (Fig. 15).

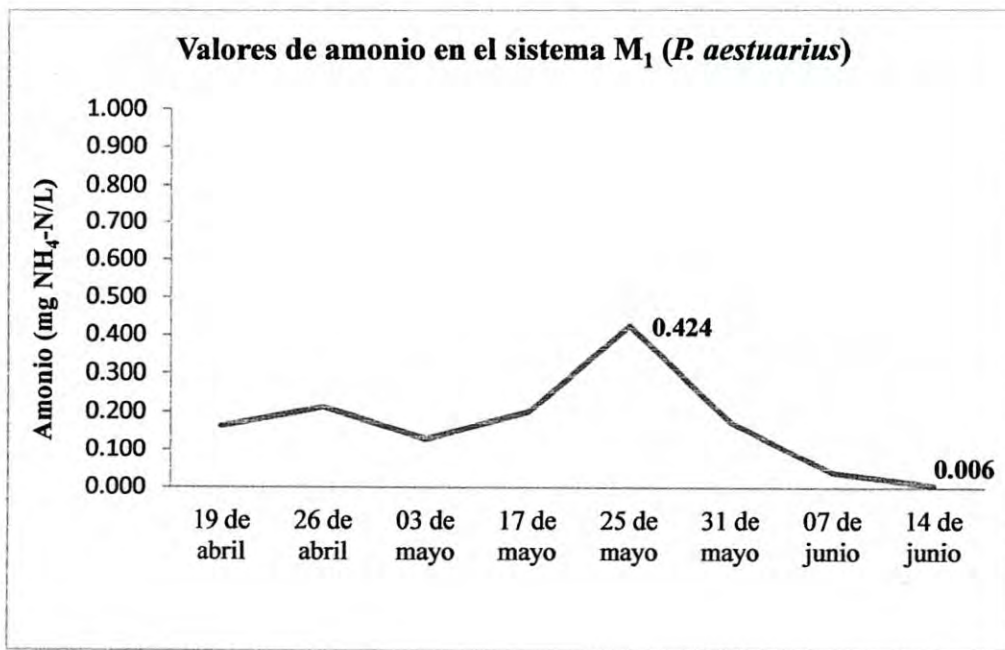


Fig.14. Valores de amonio NH₄-N/L en el sistema M₁ registrados durante el periodo experimental.

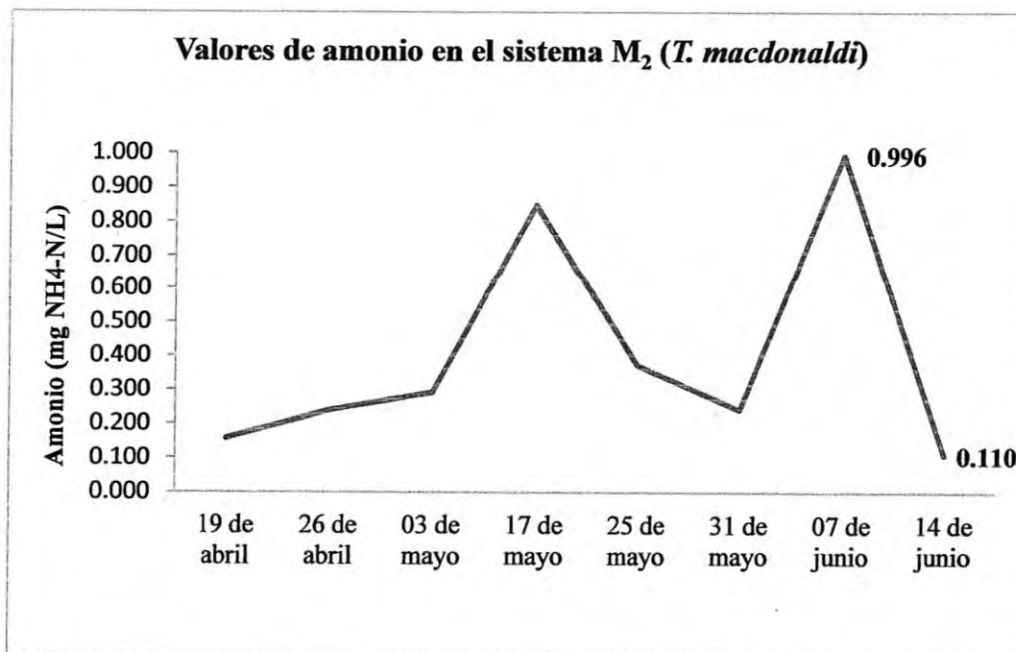


Fig.15. Valores de amonio NH₄-N/L en el sistema M₂ registrados durante el periodo experimental.

V.2.6. Nitritos-N ($\text{NO}_2\text{-N}$)

El valor promedio de nitritos para el sistema M_1 fue de 0.22 ± 0.19 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$. El valor mínimo se presentó en la muestra del día 7 de junio con un valor de 0.072 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$, mientras que el valor máximo se presentó en la muestra del día 25 de mayo donde alcanzó un valor de 0.640 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$ (Fig. 16). En el sistema M_2 el valor promedio de nitritos fue de 0.41 ± 0.52 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$. El valor mínimo se presentó en la muestra del 19 de abril con un valor de 0.034 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$, mientras que el valor máximo se presentó en la muestra del 17 de mayo donde alcanzó un valor de 1.582 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$ (Fig. 17).

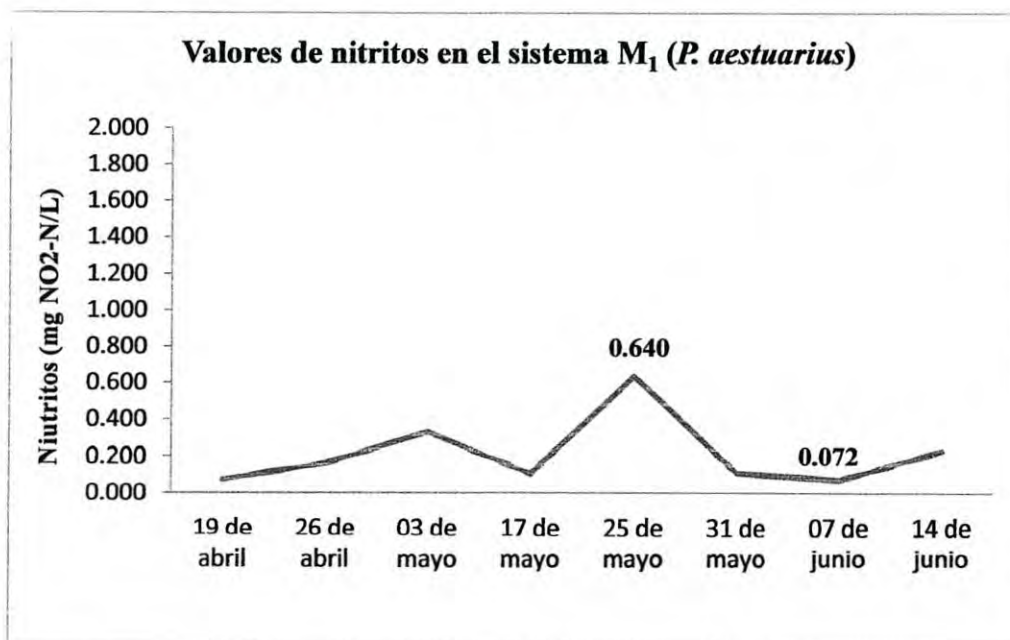


Fig.16. Valores de nitritos ($\text{NO}_2\text{-N}$) en el sistema M_1 registrados durante el periodo experimental.

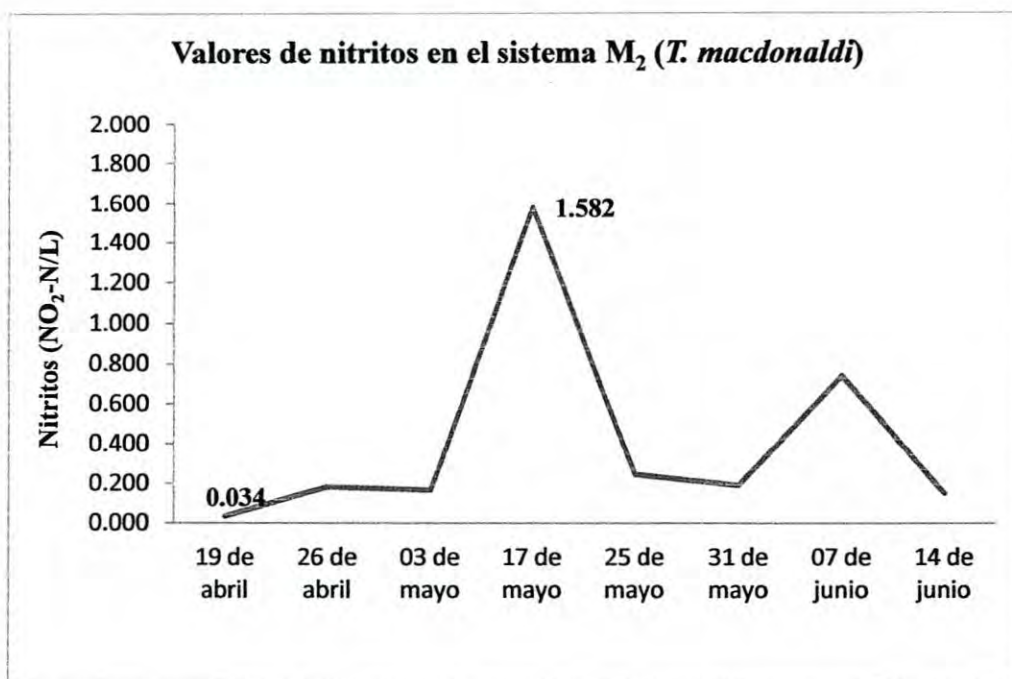


Fig.17. Valores de nitritos (NO₂-N) en el sistema M₂ registrados durante el periodo experimental.

V.2.7. Nitratos-N (NO₃-N)

El valor promedio de nitratos para el sistema M₁ fue de 0.66 ± 0.36 mg NO₃-N/L. El valor mínimo se presentó en la muestra del día 19 de abril con un valor de 0.120 NO₃-N/L, mientras que el valor máximo se presentó en la muestra del día 25 de mayo donde alcanzó un valor de 1.358 NO₃-N/L (Fig. 18). En el sistema M₂ el valor promedio de nitratos fue de 0.71 ± 0.63 NO₃-N/L. El valor mínimo se presentó en la muestra del 19 de abril con un valor de 0.026 NO₃-N/L, mientras que el valor máximo se presentó en la muestra del 17 de mayo donde alcanzó un valor de 2.025 NO₃-N/L (Fig. 19).

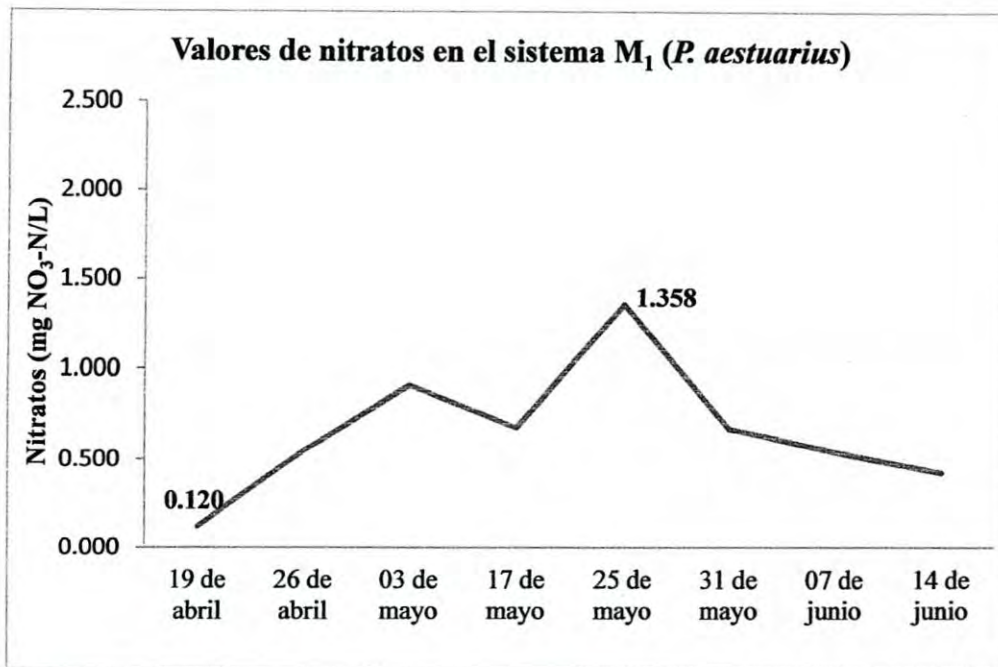


Fig.18. Valores de nitratos (NO₃-N) en el sistema M₁ registrados durante el periodo experimental.

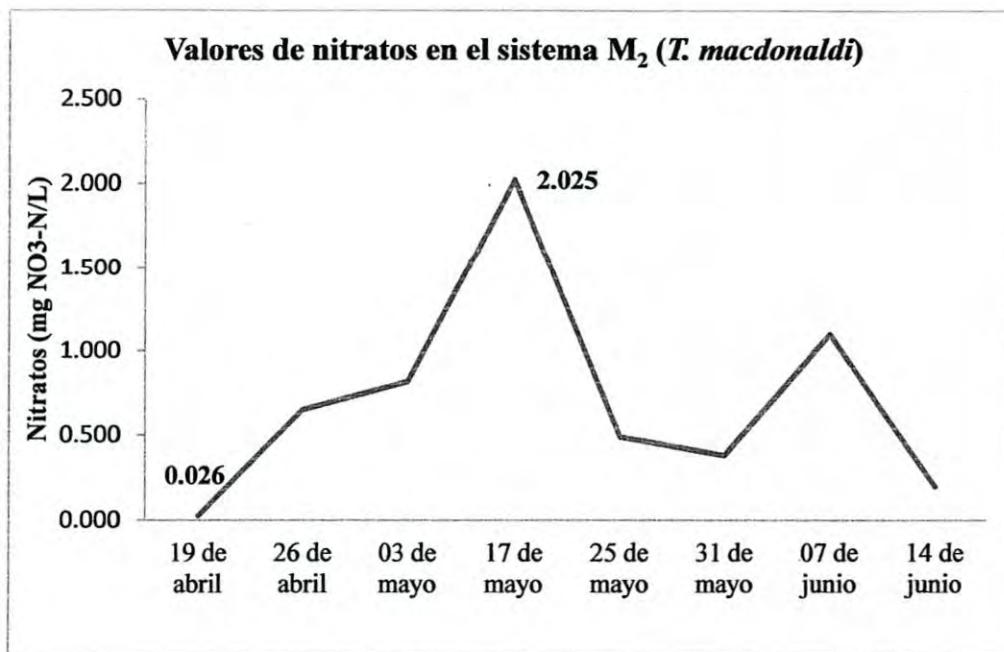


Fig.19. Valores de nitratos (NO₃-N) en el sistema M₂ registrados durante el periodo experimental.

V.3. Parámetros de producción para *P. aestuarius*

En este estudio los parámetros de producción analizados fueron peso inicial, peso final, incremento en peso expresado en g (peso final–peso inicial) y en porcentaje ((peso final–peso inicial)/peso inicial x 100), supervivencia, factor de conversión alimenticio (FCA= alimento consumido/peso ganado), tasa de crecimiento específico (TCE= (ln peso final–ln peso inicial) x 100/días transcurridos)), tasa de eficiencia proteica (TEP= g proteína ingerida/g incremento en peso húmedo), factor de condición ((K= (peso húmedo × 100)/longitud total³ (cm)), longitud total inicial, longitud total final, ganancia en longitud total final, longitud estándar inicial, longitud estándar final y ganancia en longitud estándar final.

Peso inicial

El peso individual inicial promedio de los organismos fue de 64.41 g para la dieta uno, 75.67 g para la dieta dos y 73.97 g para la dieta tres. La prueba estadística de ANOVA indicó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos al inicio del experimento. Para los organismos alimentados con la dieta comercial fue de 68.03 g (Tabla 3).

Peso final

El peso individual final promedio de los organismos fue de 85.93 g para la dieta uno, 86.82 g para la dieta dos y 90.73 g para la dieta tres. No existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Para los organismos alimentados con la dieta comercial fue de 75.79 g (Tabla 3).

Peso ganado

El peso ganado promedio de los organismos fue de 21.52 g ó 43.71% para la dieta uno, 11.15 g ó 18.56% para la dieta dos y 16.76 g ó 35.69% para la dieta tres, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Para la dieta comercial, los valores de peso ganado fueron 7.76 g ó 9.74% (Tabla 3).

Supervivencia

Al final del experimento, la supervivencia promedio de los organismos fue de 87.50% para las dietas uno, dos y tres, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Para la dieta comercial la supervivencia fue de 75% (Tabla 3).

Tabla 3.- Parámetros de producción de *P. aestuarius*. Los valores son promedios de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	Peso inicial (g)	Peso Final (g)	Peso ganado (g)	Peso ganado (%)	Supervivencia (%)
Dieta 1	64.41 \pm 31.75	85.93 \pm 32.14	21.52 \pm 10.36	43.71 \pm 33.12	87.50 \pm 13.69
Dieta 2	75.67 \pm 16.69	86.82 \pm 22.82	11.15 \pm 26.97	18.56 \pm 39.85	87.50 \pm 13.69
Dieta 3	73.97 \pm 26.35	90.73 \pm 19.66	16.76 \pm 27.72	35.69 \pm 53.79	87.50 \pm 20.92
Anova (Pr>F)	0.7206	0.9416	0.7431	0.5978	0.9609
Dieta comercial	68.03 \pm 29.43	75.79 \pm 37.69	7.76 \pm 14.86	9.74 \pm 19.93	75 \pm 15.81

Factor de conversión alimenticia (FCA)

El FCA de los organismos alimentados con la dieta uno fue de 7.98, 6.16 para la dieta dos y 6.09 para la dieta tres. No se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. El FCA para los organismos alimentados con la dieta comercial fue de 10.24 (Tabla 4).

Tasa de crecimiento específico (TCE)

La TCE de los organismos de la dieta uno fue de 0.78 %/día, 0.75 %/día para la dieta dos y 0.93 %/día para la dieta tres, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Para los organismos alimentados con la dieta comercial fue de 0.53 %/día (Tabla 4).

Tasa de eficiencia proteica (TEP)

La TEP promedio de los organismos para la dieta uno, dos y tres fue de 3.77, 3.21 y 3.34, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Para los organismos alimentados con la dieta comercial la TEP fue de 3.95 (Tabla 4).

Factor de condición (K)

El K promedio fue de 0.95, 0.85, 0.94 para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, y tampoco se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. Para los organismos alimentados con la dieta comercial, K fue de 0.90 (Tabla 4).

Tabla 4.- Continuación de los parámetros de producción de *P. aestuarius*. Los valores son promedios de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	FCA	TCE (%/día)	TEP	K
Dieta 1	7.98 \pm 3.11	0.78 \pm 0.38	3.77 \pm 1.47	0.95 \pm 0.14
Dieta 2	6.16 \pm 1.19	0.75 \pm 0.16	3.21 \pm 0.62	0.85 \pm 0.19
Dieta 3	6.09 \pm 2.19	0.93 \pm 0.53	3.34 \pm 1.20	0.94 \pm 0.14
Anova (Pr>F)	0.5292	0.8265	0.8160	0.0774
Dieta comercial	10.24 \pm 1.56	0.53 \pm 0.02	3.95 \pm 0.61	0.90 \pm 0.12

Longitud total inicial

La longitud total inicial promedio fue de 176.70, 186.80, y 183.78 mm para las dietas uno, dos, y tres, respectivamente. La prueba estadística de ANOVA indicó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. El valor promedio para la dieta comercial fue de 176.07 mm (Tabla 5).

Longitud total final

La longitud total final promedio fue de 202.75, 213.92 y 209.52 mm para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. El valor para la dieta comercial fue de 192.70 mm (Tabla 5).

Ganancia en longitud total final

La ganancia de longitud total final promedio fue de 26.07, 27.13 y 25.78 mm para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. No se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. El valor promedio para la dieta comercial fue de 16.68 mm (Tabla 5).

Tabla 5.- Continuación de los parámetros de producción de *P. aestuarius*. Los valores son promedios de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	Longitud total inicial (mm)	Longitud total final (mm)	Ganancia en longitud total (mm)
Dieta 1	176.70 \pm 25.90	202.75 \pm 22.83	26.07 \pm 29.55
Dieta 2	186.80 \pm 17.18	213.92 \pm 18.67	27.13 \pm 17.09
Dieta 3	183.78 \pm 26.28	209.52 \pm 16.34	25.78 \pm 27.98
Anova (Pr>F)	0.7509	0.6157	0.9953
Dieta comercial	176.07 \pm 25.05	192.70 \pm 35.31	16.68 \pm 14.71

Longitud estándar inicial

La longitud estándar inicial promedio fue de 140.57, 156.50 y 151.47 mm para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. La prueba estadística de ANOVA indicó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 6). El valor promedio para los ejemplares alimentados con la dieta comercial fue de 144.90 mm.

Longitud estándar final

La longitud estándar final promedio fue de 166.83, 176.48 y 170.77 mm para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. El valor para los ejemplares de la dieta comercial 157.15 mm (Tabla 6).

Ganancia en longitud estándar

La ganancia de longitud estándar promedio fue de 26.27, 20.02 y 19.32 mm para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. No existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Para la dieta comercial este valor fue de 12.30 mm (Tabla 6).

Tabla 6.- Continuación de los parámetros de producción de *P. aestuarius*. Los valores son promedios de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento Dietario	Longitud estándar inicial (mm)	Longitud estándar final (mm)	Ganancia en longitud estándar (mm)
Dieta 1	140.57 \pm 24.17	166.83 \pm 21.98	26.27 \pm 12.45
Dieta 2	156.50 \pm 17.19	176.48 \pm 16.62	20.02 \pm 15.42
Dieta 3	151.47 \pm 20.87	170.77 \pm 13.93	19.32 \pm 23.49
Anova (Pr>F)	0.4245	0.6493	0.7603
Dieta comercial	144.90 \pm 19.25	157.15 \pm 31.08	12.30 \pm 16.07

V.4. Grado de hidrólisis de las dietas experimentales para *P. aestuarius*

Grado de hidrólisis básica y sistema Tripsina-Quimotripsina-Proteasa alcalina

El grado de hidrólisis básica de las dietas experimentales con el extracto enzimático intestinal de lenguado fue de 35.25, 41.38 y 33.90% para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. El valor para la dieta comercial fue de 40.05%. Cuando se utilizó el sistema enzimático Tripsina-Quimotripsina-Proteasa alcalina para hidrolizar las dietas experimentales se observaron valores superiores para el grado de hidrólisis, 100.00, 92.21 y 98.84% para las dietas experimentales uno, dos y tres respectivamente, y 77.67% para la dieta comercial (Tabla 7).

Grado de hidrólisis ácida y sistema Pepsina

El grado de hidrólisis ácida de las dietas experimentales con el extracto enzimático del estómago de lenguado fue de 91.68, 86.74 y 95.83% para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. La prueba estadística de ANOVA de los datos transformados a arco seno demostró diferencias significativas entre los tratamientos. La dieta experimental 3 resultó significativamente mejor digerida que la dieta 2, pero igual a la dieta 1. También el sistema

enzimático de Pepsina mostró valores superiores de hidrólisis que el extracto de estómago, con 97.38, 100.00, y 99.58% para las dietas 1, 2 y 3, y 97.80% para la dieta comercial (Tabla 7).

Tabla 7.- Grado hidrólisis (GH) de las dietas experimentales para *P. aestivalis*. Los valores son promedios de 3 replicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Dietas experimentales	GH básica (%)	GH Sistema Tripsina-Quimotripsina-Proteasa alcalina (%)	GH ácida (%)	GH Sistema Pepsina (%)
Dieta 1	35.25 \pm 2.18	100.00 \pm 0.00	91.68 ^{ab} \pm 1.79	97.38 \pm 4.53
Dieta 2	41.38 \pm 1.85	92.21 \pm 11.02	86.74 ^b \pm 4.32	100.00 \pm 0.0
Dieta 3	33.91 \pm 4.97	98.84 \pm 1.64	95.83 ^a \pm 2.91	99.58 \pm 0.73
Anova (Pr>F)	0.2073	0.5085	0.0375	0.5521
Dieta Comercial	40.05 \pm 4.39	77.67 \pm 2.49	85.23 \pm 3.25	97.80 \pm 3.82

V.5. Parámetros de producción para *T. macdonaldi*

Para esta especie se analizaron los mismos parámetros de producción que para el lenguado, *P. aestivalis*, y adicionalmente se evaluó el índice hepatosomático (IHS= (peso del hígado/peso total) x 100)).

Peso inicial (g)

El peso inicial individual promedio de los organismos fue de 74.16, 76.23 y 74.51 g para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos al iniciar el experimento. Para la dieta comercial fue de 72.65 g (Tabla 8).

Peso final (g)

El peso final promedio fue de 197.04, 193.91 y 203.61 g para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, y tampoco se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos al final del experimento. Para la dieta comercial el peso promedio final fue de 117.94 g después de los 56 días del periodo experimental (Tabla 8).

Peso ganado (g)

El peso ganado promedio de los organismos fue de 122.88 g ó 166.45%, 117.67 g ó 154.64% y 129.10 g ó 174.78% para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. No existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Los organismos de la dieta comercial ganaron 45.29 g ó 62.04% de peso (Tabla 8).

Supervivencia (%)

La supervivencia promedio de los organismos fue de 100% para las dietas uno y dos, y 93.33% para la dieta tres y la dieta comercial. La prueba estadística de ANOVA indicó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos experimentales (Tabla 8).

Tabla 8.- Parámetros de producción de *T. macdonaldi*. Los valores son promedios de 6 réplicas ± D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	Peso inicial (g)	Peso Final (g)	Peso ganado (g)	Peso ganado (%)	Supervivencia (%)
Dieta 1	74.16 ± 6.85	197.04 ± 21.11	122.88 ± 18.81	166.45 ± 25.64	100.00 ± 0.00
Dieta 2	76.23 ± 4.73	193.91 ± 18.88	117.67 ± 18.88	154.64 ± 22.41	100.00 ± 0.00
Dieta 3	74.51 ± 6.27	203.61 ± 21.43	129.10 ± 21.43	174.78 ± 37.95	93.33 ± 10.32
Anova (Pr>F)	0.8219	0.7107	0.6068	0.5153	0.1406
Dieta comercial	72.65 ± 3.15	117.94 ± 19.25	45.29 ± 17.55	62.04 ± 22.31	93.33 ± 10.32

Factor de conversión alimenticia (FCA)

El FCA promedio 2.17, 2.30 y 2.25 para la dieta uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Para el tratamiento de la dieta comercial el FCA fue de 7.04 (Tabla 9).

Tasa de crecimiento específico (TCE)

La TCE promedio fue de 1.74, 1.66 y 1.79 g/día para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos. La TCE para los organismos alimentados con la dieta comercial fue de 0.84 g/día (Tabla 9).

Tasa de eficiencia proteica (TEP)

La TEP promedio de los organismos fue de 1.02, 1.19 y 1.23 para las dietas uno, dos y tres, respectivamente. De manera similar a los otros parámetros, no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos. La TEP para la dieta comercial fue de 2.72 (Tabla 9).

Factor de condición (K)

Los valores promedio de K fueron de 1.07, 1.05 y 1.08 para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Para el tratamiento de la dieta comercial el valor de K fue de 1.02 (Tabla 9).

Índice hepatoesomático (IHS)

El IHS promedio fue de 1.10, 1.09 y 1.27 para los organismos alimentados con las dietas uno, dos y tres, respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos. El IHS para los organismos alimentados con la dieta comercial fue de 1.63 (Tabla 9).

Tabla 9.- Continuación de los Parámetros de producción de *T. macdonaldi*. Los valores son medias de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	FCA	TCE (%/día)	TEP	K	IH
Dieta 1	2.17 \pm 0.34	1.74 \pm 0.17	1.02 \pm 0.16	1.07 \pm 0.21	1.10 \pm 0.00
Dieta 2	2.30 \pm 0.30	1.66 \pm 0.15	1.19 \pm 0.16	1.05 \pm 0.15	1.09 \pm 0.18
Dieta 3	2.25 \pm 0.42	1.79 \pm 0.22	1.23 \pm 0.23	1.08 \pm 0.17	1.27 \pm 0.12
Anova (Pr>F)	0.8363	0.5251	0.1875	0.8020	0.2532
Dieta comercial	7.04 \pm 3.16	0.84 \pm 0.25	2.72 \pm 1.22	1.02 \pm 0.22	1.63 \pm 0.15

Longitud total inicial

La longitud total inicial promedio fue de 196.36, 196.63 y 199.10 mm para los organismos de las dietas uno dos y tres, respectivamente. No existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Para la dieta comercial el valor promedio fue de 193.73 mm (Tabla 10).

Longitud total final

La longitud total final promedio fue de 263.20, 263.17 y 265.72 mm para los organismos de las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin evidenciarse diferencias significativas entre tratamientos. Para los ejemplares de la dieta control el valor promedio fue de 225.88 mm (Tabla 10).

Ganancia en longitud total

La ganancia de longitud total promedio fue de 66.84, 66.53 y 66.62 mm para los organismos de las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin evidenciarse diferencias significativas entre los tratamientos. Para los peces alimentados con la dieta control el valor promedio fue de 32.15 mm (Tabla 10).

Tabla 10.- Continuación de los parámetros de producción de *T. macdonaldi*. Los valores son promedios de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	Longitud total inicial (mm)	Longitud total final (mm)	Ganancia en longitud total (mm)
Dieta 1	196.36 \pm 6.96	263.20 \pm 9.34	66.84 \pm 5.21
Dieta 2	196.63 \pm 3.31	263.17 \pm 6.40	66.53 \pm 5.55
Dieta 3	199.10 \pm 2.29	265.72 \pm 6.91	66.62 \pm 6.90
Anova (Pr>F)	0.5282	0.8049	0.9963
Dieta comercial	193.73 \pm 5.66	225.88 \pm 11.14	32.15 \pm 12.23

Longitud estándar inicial

La longitud estándar inicial promedio de los organismos fue de 165.28, 167.47 y 167.73 mm para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, y no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. Para los peces de la dieta comercial el valor promedio fue de 167.10 mm (Tabla 11).

Longitud estándar final

La longitud estándar final promedio fue de 224.40, 223.67 y 226.42 mm para organismos de las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre tratamientos. El promedio para animales de la dieta comercial fue de 191.82 mm (Tabla 11).

Ganancia en longitud estándar

La ganancia en longitud estándar final promedio fue de 59.12, 56.20 y 58.68 mm para organismos de las dietas uno, dos y tres. No se demostraron diferencias significativas entre tratamientos. La ganancia para ejemplares de la dieta comercial fue de 24.72 mm (Tabla 11).

Tabla 11.- Continuación de los parámetros de producción de *T. macdonaldi*. Los valores son promedios de 6 réplicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Tratamiento dietario	Longitud estándar inicial (mm)	Longitud estándar final (mm)	Ganancia en longitud estándar (mm)
Dieta 1	165.28 \pm 5.92	224.40 \pm 8.02	59.12 \pm 4.02
Dieta 2	167.47 \pm 2.71	223.67 \pm 8.52	56.20 \pm 7.84
Dieta 3	167.73 \pm 4.22	226.42 \pm 2.38	58.68 \pm 4.90
Anova (Pr>F)	0.6139	0.7743	0.6747
Dieta comercial	167.10 \pm 6.28	191.82 \pm 7.65	24.72 \pm 9.16

V.6. Grado de hidrólisis de las dietas experimentales para *T. macdonaldi*

Grado de hidrólisis básica y sistema Tripsina-Quimotripsina-Proteasa alcalina

El grado de hidrólisis básica de las dietas experimentales con el extracto enzimático intestinal de totoaba fue de 38.56, 38.82 y 31.80% para las dietas uno, dos y tres, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos. El valor para la dieta comercial fue de 40.05%. Los valores para el sistema enzimático Tripsina-Quimotripsina-Proteasa alcalina, como ya se mencionó para el lenguado, fueron superiores, de 100.00, 92.21 y 98.84% para las dietas experimentales 1, 2 y 3 respectivamente, y 77.67% para la dieta comercial (Tabla 12).

Grado de hidrólisis ácida y sistema Pepsina

El grado de hidrólisis ácida de las dietas experimentales con el extracto enzimático del estómago de totoaba fue de 100% para las dietas uno y tres, y de 92.63% para la dieta 2, que fue significativamente menos digerida que las anteriores. El sistema enzimático de Pepsina mostró valores de hidrólisis similares al extracto de estómago, con 97.38, 100.00, y 99.58% para las dietas 1, 2 y 3, respectivamente y 97.80% para la dieta comercial (Tabla 12).

Tabla 12.- Grado hidrólisis (GH) de las dietas experimentales para *T. macdonaldi*. Los valores son promedios de 3 replicas \pm D.E. Superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (Alfa de Duncan = 0.05). Los datos de producción obtenidos en el tratamiento de la dieta comercial no se incluyeron en el análisis estadístico.

Dietas experimentales	GH básica (%)	GH Sistema Tripsina-Quimotripsina-Proteasa alcalina (%)	GH ácida (%)	GH Sistema Pepsina (%)
Dieta 1	38.56 \pm 2.08	100.00 \pm 0.00	100.00 ^a \pm 0.00	97.38 \pm 4.53
Dieta 2	32.83 \pm 4.09	92.21 \pm 11.02	92.63 ^b \pm 4.86	100.00 \pm 0.0
Dieta 3	31.80 \pm 1.73	98.84 \pm 1.64	100.00 ^a \pm 0.00	99.58 \pm 0.73
Anova (Pr>F)	0.1179	0.5085	0.0033	0.5521
Dieta Comercial	38.90 \pm 2.05	77.67 \pm 2.49	90.30 \pm 2.50	97.80 \pm 3.82

VI. DISCUSIÓN

Variables de calidad de agua oxígeno disuelto, temperatura, salinidad y pH

Uno de los parámetros ambientales más importantes en el cultivo de cualquier organismo es la concentración de oxígeno disuelto. Si el nivel de oxígeno disuelto abandona el intervalo óptimo del organismo en cultivo, provocará un estado de estrés (Hargreaves y Tucker, 2002) y lo hará susceptible al ataque de patógenos. Evidentemente, un nivel extremadamente bajo de oxígeno disuelto pudiera ser incompatible con la vida. La solubilidad del oxígeno se incrementa cuando baja la temperatura y decrece cuando la temperatura se eleva, por lo que los niveles en un sistema de cultivo pueden fluctuar a lo largo del día. Por otro lado, los peces son organismos ectotermos y su temperatura corporal es casi igual a la del medio en el que habitan, con una variación de 0.5 a 1°C. Por lo tanto, la temperatura es una variable que tiene gran influencia en los procesos biológicos y químicos de éstos organismos (Svobodová *et al.* 1993). La salinidad en el agua es un parámetro importante a considerar cuando se pretende cultivar cualquier especie ya que afecta la tasa metabólica, la ingesta de alimentos, la modulación hormonal y el balance iónico y osmótico. Los peces contienen en sus branquias quimiorreceptores que se encuentran controlados por el sistema nervioso y participan en la regulación del balance hídrico de los peces (Luz *et al.* 2005). Los peces de agua dulce y los marinos difieren en los procesos que utilizan para mantener dicho equilibrio (Reig, 2001). El pH es una medida que indica la acidez o alcalinidad de una sustancia. En acuicultura este factor es de suma importancia ya que afecta directamente el desempeño de los organismos. Todos los organismos acuáticos tienen un intervalo de tolerancia y un nivel óptimo de pH. En el caso de los peces, su mejor crecimiento se da en valores de pH entre 6-9. Si el pH sobrepasa o disminuye por encima o por debajo del rango óptimo, los organismos resultan afectados por estos cambios.

Las variables promedio de los parámetros de calidad de agua del sistema M₁ donde se encontraban los lenguados de Cortés, mostraron valores de 4.06 mg/L, 28.47°C, 37.22‰ y 7.86 de oxígeno disuelto, temperatura, salinidad y pH, respectivamente. Si bien es cierto que no hay reportes de las condiciones óptimas de calidad de agua para el cultivo de la especie *P. aestuarius* y, a saber, este trabajo constituye el primer reporte de su cultivo en laboratorio, si existen reportes para otros miembros de la familia Paralichthyidae. Galaviz *et al.* (2009)

realizaron una investigación donde se evaluó la influencia del nivel de energía dietario sobre el crecimiento, supervivencia y utilización del alimento en el lenguado de California (*P. californicus*). Se encontró que el mejor crecimiento se registró en una temperatura de 20°C y además señalan que las temperaturas superiores a 25°C pudieran tener efectos negativos sobre el crecimiento de esta especie que se distribuye en aguas de la costa del Pacífico desde el río Quillayute en el estado de Washington, E.U.A, hasta Bahía Magdalena en Baja California Sur. Perez-Arvizu (2009) reportó el efecto de la densidad de siembra en juveniles de lenguado de California que evaluó mediante indicadores de estrés. Su estudio se realizó a 4.04 mg/L de oxígeno disuelto, 22.42°C y 32.30‰ de salinidad, y encontró que el estrés de los organismos fue provocado por la densidad de siembra y no por las variables de calidad de agua. Martínez-Montaña (2007) reportó mantener cultivo larvario y juveniles del lenguado de California a 19°C, 7.0 mg/L de oxígeno disuelto y 35‰ de salinidad. Durante el mantenimiento de los juveniles la temperatura osciló de 20 a 25°C y el oxígeno disuelto se mantuvo en 4.1 mg/L.

Se considera pues, que las variables de oxígeno disuelto, salinidad y pH en este trabajo se mantuvieron en niveles similares a los del cultivo de *P. californicus*, una especie muy cercana taxonómicamente a *P. aestuarius*. Sin embargo, la temperatura óptima de cultivo de *P. californicus* es menor a 25°C, que difiere de la temperatura en este experimento. La elección de la temperatura en este trabajo se hizo en consideración del patrón de distribución geográfica de *P. aestuarius* que es más al sur, abarca todo el Golfo de California hasta Bahía Almejas en Baja California Sur, donde las aguas son más cálidas (Fisher *et al.* 1995a), y tomando en consideración que los ejemplares utilizados fueron organismos silvestres capturados en la zona de Santa Rosa. Lo anterior justifica la temperatura ligeramente más cálida de 28.47°C de este trabajo. No obstante, investigaciones futuras con esta especie se deberán concentrar en determinar los niveles óptimos de calidad de agua.

En el sistema M₂ donde se mantuvieron las totoabas, los valores promedio de calidad de agua fueron 3.50 mg/L, 28.44°C, 38.0‰ y 7.83 para oxígeno disuelto, temperatura, salinidad y pH, respectivamente. Siendo la totoaba una especie que se encuentra desde hace relativamente poco tiempo en proceso de investigación para cultivo acuícola, no es de extrañarse que la información acerca de la especie sea escasa. Sin embargo, las condiciones de cultivo pueden

ser comparables con la especie *Sciaenops ocellatus*, una especie también perteneciente a la familia Scianidae que se cultiva exitosamente en E.U.A. desde 1970.

Tomasso y Kepton (2000) evaluaron el efecto de la temperatura sobre la producción de *S. ocellatus* y encontraron que la especie tuvo un mayor crecimiento a temperaturas de 30.4-31.1°C a una salinidad de 5 a 10‰. Wurts (1993) señaló que el rango de temperatura óptima de cultivo para *S. ocellatus* es de 24°C a 31°C. Mientras que Davis (1990) señaló que para el cultivo de *S. ocellatus* los niveles de oxígeno disuelto deben mantenerse por arriba de 3 mg/L, ya que por debajo de este nivel los peces dejan de alimentarse. Por su parte, Rueda-López (2011) evaluó el crecimiento de totoaba alimentadas con diferentes tasas de proteína/energía en la dieta, a una temperatura promedio de 25°C y obtuvieron altas tasas de crecimiento. Lo anterior hace evidente que las condiciones en las que se llevó a cabo este trabajo fueron muy similares a las óptimas establecidas para la especie *S. ocellatus* y al reporte de Rueda-López para la misma especie. Sin embargo, también es prioritario establecer condiciones óptimas de calidad de agua para la totoaba, ya que este conocimiento permitirá un mejor desempeño de los peces en condiciones óptimas para su cultivo.

Concentración de compuestos nitrogenados (amonio, nitritos y nitratos)

En cuanto a las concentraciones de compuestos nitrogenados, el amonio en su forma no ionizada es el compuesto más tóxico para los peces y se produce como un desecho metabólico procedente de la descomposición de las proteínas consumidas, y también proceden del alimento no consumido. El nitrito es el compuesto intermedio durante el proceso de nitrificación y es tóxico, por lo que es importante monitorearlo continuamente y corregirlo cuando los valores exceden los límites aceptables de la especie bajo cultivo. Por otra parte, el nitrato es el producto final del proceso de nitrificación y el menos tóxico de los productos nitrogenados. En recirculación se controla por medio del intercambio diario de agua en el sistema, eliminándolo. Las concentraciones de nitrógeno amoniacal total, nitritos y nitratos en el sistema M₁, donde se encontraban los lenguados de Cortés, fueron de 0.17 mg NH₄-N/L, 0.22 mg NO₂-N/L y 0.66 mg NO₃-N/L, respectivamente, que son considerados valores en el rango deseable para la mayoría de los peces marinos, pues son sumamente susceptibles principalmente a los dos primeros compuestos nitrogenados mencionados. Bianchini *et al.* (1995) trabajaron con la especie *Paralichthys orbignyanus* y establecieron que la

concentración letal media LC_{50} a 30‰ y 25 °C para esta especie es de 49.63 mg NH_4 -N/L después de 96 horas, estableciendo como niveles seguros 4.96 mg NH_4 -N/L y 3.06 mg NO_2 -N/L, mencionando que es una especie tolerante a altas concentraciones de amonio y nitritos. Los valores de amonio y nitritos registrados en este experimento mostraron estar muy por debajo de los valores máximos recomendados para *P. orbignyana*, un lenguado perteneciente a la misma familia. Si bien este lenguado se caracteriza por su gran resistencia a altas concentraciones de dichos compuestos nitrogenados, es de suma importancia determinar los valores óptimos y máximos para *P. aestuarius* para evitar afectación en el desempeño en crecimiento y salud de los organismos en cultivo que se pudieran traducir en mortalidades.

En el sistema M_2 , donde se encontraban las totoabas, los valores promedio de nitrógeno amoniacal total, nitritos y nitratos fueron de 0.41 mg NH_4 -N/L, 0.41 mg NO_2 -N/L y 0.71 mg NO_3 -N/L, respectivamente. También dentro del rango deseable para peces marinos, pero valores ligeramente mayores que los del sistema M_1 , que se explican por la mayor cantidad de biomasa y alimento suministrado en el sistema M_2 . Wise *et al.* (1989) determinó que la concentración letal media LC_{50} de amonio no ionizado para *S. ocellatus* es de 0.8 mg NH_3 -N/L a 20°C, 4.0‰ y 6.8-7.1 de pH después de 48 horas, y de 0.9 mg después de 24 horas. Respecto a los nitritos, Wise y Tomasso (1989) establecieron que para *S. ocellatus* la concentración letal media LC_{50} después de 48 horas oscila entre los 85.7 mg NO_2 -N/L con una salinidad de 36.0‰, hasta 2.8 mg/L con una salinidad de 0.6‰. Lo anterior señala que los valores de los principales compuestos nitrogenados tóxicos, amonio y nitritos, reportados en este trabajo se encuentran por debajo del límites letal medio para *S. ocellatus*. Sin embargo, es necesario determinar las concentraciones letales medias y óptimas para el cultivo de esta especie.

Parámetros de crecimiento del lenguado de Cortés y de la totoaba

La proteína dietaria no evidenció tener un efecto sobre el crecimiento de ninguna de las dos especies evaluadas a los niveles de inclusión utilizados en la formulación y bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, lo anterior demostrado por la ausencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos para los parámetros de desempeño evaluados, como peso final, peso ganado, supervivencia, FCA, TEC, TEP, K, e IH. Rueda-López (2011) evaluó en totoaba (peso inicial: 12.12 g) la tasa de proteína/energía dietaria, utilizando tres niveles de proteína (43, 48 y 52%) y dos niveles de lípido (8.5 y 18%). Después de 10

semanas observaron que los peces alimentados con 52% de proteína y 8.5% de lípido dietario tuvieron un peso significativamente mayor que los ejemplares de los demás tratamientos. Estos resultados distan un poco de los observados en el presente trabajo, en los que no se observaron diferencias en el desempeño de organismos que recibieron dietas con 47, 52 ó 55% de proteína cruda a un nivel fijo de lípidos de 8%. Los animales del presente estudio tuvieron un peso promedio individual inicial de 74.40 g, lo que pudiera explicar el aparentemente menor requerimiento proteico; ya que los peces de menor talla suelen desempeñarse mejor cuando son alimentados con dietas de mayor contenido proteico a tasas de 4 a 5% del peso corporal (Wurts y Stickney, 1993). Por otra parte, Serrano *et al.* (1992), en un estudio de 8 semanas a 23°C con organismos de un peso promedio inicial de 2.0 g, reportaron que la inclusión de 40% de proteína de alta calidad y de 7 a 10% de lípido en una dieta provee máximo crecimiento y deposición de lípido en *S. ocellatus*. En consideración de lo que ha sido observado con otras especies de la familia Scianidae, existe la posibilidad de que para la totoaba el requerimiento dietario sea aún menor a 47% durante la fase de engorda, pero se hace necesaria más investigación para evaluar niveles menores de proteína dietaria satisfaciendo el nivel óptimo de energía dietaria con el fin de optimizar las formulaciones comerciales, lo que beneficiaría la rentabilidad y la sustentabilidad del cultivo comercial de la especie (Minjarez-Osorio *et al.* 2012).

En este estudio la totoaba ganó 117.67 a 129.10 g en 56 días, equivalente a un incremento en crecimiento diario de 2.10 a 2.30 g/día. Rueda-López *et al.* (2011) reportaron incrementos en peso de totoaba de 18.0 a 71.9 g después de 70 días, equivalente a incrementos en crecimiento diario de 0.2 a 0.9 g/día. Para *S. ocellatus* cultivado en condiciones ideales se han reportado crecimientos desde 0.45 a 1.36 kg en un año (Wurts and Stickney, 1993) y altas tasas de incremento en crecimiento diario que van desde 1.62 (Serafy *et al.* 1995) a 1.97 g/día (Jirsa *et al.* 1997) para juveniles de esta especie. Los valores de ganancia en peso reportados en este estudio para totoaba parecen superiores a los reportados para la misma especie por Rueda-López *et al.* (2011), lo que pudiera ser explicado parcialmente por la diferencia en la temperatura entre ambos estudios, ya que el trabajo de Rueda-López se realizó a 25°C mientras que la presente investigación fue a 28°C, así como también a la diferencia en la talla inicial de los individuos. En organismos ectotermos el consumo de alimento y el crecimiento

se aceleran al incrementar la temperatura. Los resultados reportados para ambas temperaturas sugieren que tal vez la temperatura óptima de cultivo de la totoaba es mayor de 25°C y más cercana a los 28°C, aunque valores superiores de temperatura necesitan ser evaluados para precisar el óptimo. Se puede deducir entonces que el estado de Sonora presenta ventaja sobre otros estados para desarrollar el cultivo de totoaba, ya que en la zona costera se pueden alcanzar fácilmente los 30°C durante la estación de verano.

Respecto a la talla inicial se puede comentar que, por ejemplo los juveniles de *S. ocellatus* tienen una fase de rezago en crecimiento entre las tallas de 0 a 6 g, luego comienzan una fase de crecimiento rápido entre los 6 y 15 g, y la fase de crecimiento exponencial con el mayor crecimiento se observa entre 18 y 258 g (Wurts and Stickney, 1993). De manera que la talla de totoaba utilizadas en este trabajo pudiera tal vez estar más cerca de la fase de rápido crecimiento de esta especie, lo que, aunado a la temperatura, puede explicar las mayores tasas de crecimiento aquí reportadas. Las tasas de crecimiento mencionadas y los valores de crecimiento observados para ésta y otras especies comercialmente cultivadas en la actualidad, por ejemplo *S. ocellatus*, nos permiten comparar a la totoaba y apreciar su potencial de cultivo (Minjarez-Osorio *et al.* 2012).

Para el lenguado de California, Galaviz *et al.* (2009) reportaron que su requerimiento de proteína cruda es de 50%, mientras que Piaget (2011) reportó que para la especie *Paralichthys adspersus* con peso promedio de 127 g, el requerimiento de proteína cruda es de 54%. Ambas especies pertenecen a la misma familia del lenguado de Cortés. Por otra parte, García-Ortega *et al.* (2002) reportaron que el requerimiento de proteína cruda en juveniles de botete diana, *Sphoeroides annulatus*, es de 55%. A pesar de que en este estudio no se observaron diferencias significativas entre los parámetros de crecimiento evaluados, los peces alimentados con la dieta de 52% de proteína tuvieron el mayor peso final y TCE, lo que probablemente indica que el requerimiento de proteína cruda de *P. aestuarius* es mayor que el de totoaba. Es importante resaltar que los organismos de esta especie eran organismos silvestres y el proceso de adaptación al consumo de alimento balanceado tomó tiempo; aunque el periodo experimental comenzó cuando ya habían aceptado el alimento, es probable que este estudio no represente del todo el potencial de crecimiento del lenguado de Cortés, aunque ciertamente los lenguados tienen menores tasas de crecimiento que los esciénidos. Es recomendable que

futuras investigaciones trabajen con porcentajes de proteína cruda más bajos y más altos que los utilizados en este estudio, utilizando organismos acostumbrados por un mayor periodo de tiempo al alimento balanceado, lo que permitirá precisar el requerimiento proteico de esta especie.

El peso ganado por el lenguado de Cortés después de 56 días de ser alimentados con las dietas experimentales fue de 11.15 a 21.52 g, lo que equivale a un crecimiento diario de 0.20 a 0.38 g. Silva y Flores (1994) señalan que *P. adspersus* es capaz de alcanzar el tamaño comercial de 500-700 g en 3 años, lo que equivale a un crecimiento diario de 0.46-0.66 g. También es importante señalar que la especie *P. adspersus* es una especie de lenguado chilena, la cual está siendo evaluada como una importante opción de cultivo en ese país. Galaviz *et al.* (2009) realizaron un estudio de 56 días para evaluar el crecimiento de juveniles de *P. californicus* de un peso inicial individual promedio de 3.9 g. Al final de experimento el peso ganado de los organismos fue de 11 g, lo que equivale a un crecimiento diario de 0.19 g. Baer (2010) realizó una investigación con otro lenguado de la familia Paralichthyidae, *Psetta maxima* o rodaballo, y reportó que esta especie cultivada en un sistema de recirculación a 18°C durante 8 semanas, desde un peso promedio individual inicial de 7.9 g crecieron hasta 35.05-35.95 g, lo cual equivale a un crecimiento diario de 0.42-0.49 g/día. Lo anterior, pone de manifiesto que la ganancia de peso observada en este trabajo es muy similar a las reportadas para las otras especies de lenguados mencionadas. Siendo este es el primer reporte de la evaluación del lenguado de Cortés en un sistema de recirculación, es razonable esperar mejores desempeños en su crecimiento conforme avance la investigación con esta especie.

La supervivencia del lenguado de Cortés mostró valores altos de 87.5% para todos los tratamientos experimentales. Piaget *et al.* (2011) reportaron supervivencias de 94%-100% para *P. adspersus* después de 170 días. Perez-Arvizu (2009) reportó porcentajes de supervivencia de 84%-94% para juveniles de *P. californicus* de 2.6 g, mientras que Aksungur *et al.* (2007) reportaron valores de supervivencia de 89-98% para rodaballo de 40 g. Es decir, los resultados obtenidos en el presente estudio son muy similares a los reportados en la literatura para varias especies de lenguados. Hay que resaltar nuevamente que los organismos en este estudio eran de origen silvestre, por lo que los altos valores de supervivencia observados aquí son de suma

importancia pues son un claro indicador de que la especie se adaptó a las condiciones de cautiverio, siendo este hecho primordial para establecer su cultivo a escala comercial.

La supervivencia de las totoabas estuvo en un rango desde 93.33 a 100%. Rueda-López (2011) reportaron porcentajes de supervivencia de 82-100%, mientras que Forsberg *et al.* (1996) reportaron supervivencias de alrededor de 85% para *S. ocellatus* cultivada a una salinidad de 5‰. Estos resultados son similares a los encontrados en esta investigación, lo que indica que la totoaba se adapta al cautiverio y tiene gran potencial para desarrollar exitosamente su cultivo.

El FCA reportado en el presente estudio para el lenguado de Cortés mostró valores de 6.09-7.98 y la TCE varió entre 0.75-0.93%/día. Aksungur *et al.* (2007) reportaron valores de FCA de 1.85-2.09 para el rodaballo (*P. maxima*) de un peso promedio inicial de 41 g cultivados en jaulas flotantes y una TCE de 0.68-0.76%/día, mientras que Turker (2006) reportó TCE de 0.46-0.92%/día para rodaballo de 15g de peso inicial. Piaget *et al.* (2011) reportaron valores de FCA de 1.84-2.62 para *P. adspersus* de un peso promedio de 131.8 g, y TCE de 0.14-0.26. Se hace evidente que el FCA obtenido en este estudio es más alto en comparación a los FCA reportados para otros lenguados, que pudiera ser explicado por la composición de las dietas formuladas, pero principalmente por el hecho de que los lenguados en este estudio eran de origen silvestre y el alimento balanceado proporcionado fue consumido limitadamente. Si bien es cierto que los valores de FCA fueron altos, existen otros trabajos con otros peces marinos, como la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosasea*, que reportan FCA de 4.27-17.60 para peces de peso inicial promedio de 24.4 g (Rolim, 2010). La TCE reportada aquí es muy similar a los valores reportados para otros lenguados, y permite apreciar el crecimiento relativamente lento de estas especies de peces marinos.

El FCA de la totoaba en este trabajo varió entre 2.17-2.30 y la TCE varió de 1.66-1.79%/día. Tomasso y Kepton (2000) reportaron para *S. ocellatus* un FCA de 2.26 para peces cultivados a 29.5°C y 5‰, y Rueda-López (2011) reportó valores de TCE de 1.2-2.5%/día, valores muy similares a los observados en este trabajo.

La TEP del lenguado de Cortés varió en un rango de 3.21-3.77. Piaget *et al.* (2011) reportaron valores de 2.12-3.10 para *P. adspersus*, mientras que Galaviz *et al.* (2009) de 1.01-

1-33 para *P. californicus* y Turker (2006) reportó valores de TEP de 2.26-2.29 para *P. maxima*. Los valores reportados para el presente trabajo son mayores que lo reportado en la literatura para diversas especies de lenguados y pueden atribuirse a las mismas razones antes explicadas respecto al origen de los organismos experimentales y el limitado consumo del alimento balanceado formulado. Sin embargo, futuras investigaciones pudieran optimizar tanto el requerimiento proteico de esta especie como la relación entre la cantidad de proteína ofrecida y la proteína ganada en peso.

La TEP de totoaba en este estudio varió entre 1.02-1.23. Rueda-López *et al.* (2011) reportaron valores de 0.7-1.1 para peces de aproximadamente 12 g de peso inicial, valores muy similares a los de este estudio, de los que se puede interpretar que la cantidad total de proteína suministrada en la dieta es eficientemente utilizada y está estrechamente relacionada con la ganancia en peso de la totoaba.

La longitud de los organismos experimentales es un parámetro irrelevante en la venta de los peces en el mercado pues la demanda y el precio están en función del peso del organismo. Sin embargo, la longitud es importante durante su manejo en los sistemas de producción, pues el buen control de la talla reduce el estrés y el canibalismo. Aunque no se reportan datos de longitud de peces comúnmente en la literatura, en este estudio la ganancia en longitud total y estándar del lenguado de Cortés (64.41-75.67 g de peso inicial) fue de 25.78-27.13 mm y de 19.32-26.27 mm, respectivamente, que equivale a un crecimiento diario de 0.46-0.48 mm y 0.35-0.47 mm respectivamente. Pérez-Arvizu (2009) reportó una ganancia diaria en longitud total de 0.83-0.94 mm para el lenguado de California de 2.6 g, y Rolim (2010) reportó una ganancia en longitud total de 0.39-0.55 mm en la cabrilla sardinera de 24.8 g. Los resultados de ganancia en longitud en este estudio son muy similares a los obtenidos para la cabrilla sardinera, y ligeramente menores que lo reportado para el lenguado de California, y como se mencionó anteriormente, puede explicarse por el tamaño inicial de los organismos, pues los organismos de menor talla crecen más rápidamente. La ganancia en longitud total y estándar de la totoaba fueron de 66.53-66.84 mm y 56.20-59.12 mm, respectivamente, lo que equivale a un crecimiento diario de 1.19 mm de longitud total y 1.0-1.06 mm de longitud estándar. Deloach (1994) reportó una ganancia en longitud total de 0.96 mm para *S. ocellatus* de 1.4 g y

41.7 mm de peso y talla inicial, respectivamente, que son valores muy similares a los reportados en este trabajo para este otro pez de la familia Sciaenidae.

Grado de hidrólisis

Los peces marinos carnívoros como la totoaba y el lenguado, poseen mayor actividad proteolítica enzimática para digerir su dieta rica en proteína animal; sin embargo, la actividad enzimática varía entre diferentes especies y es influenciada no solo por la edad, sino también por la cantidad y composición de la dieta (German *et al.* 2004). La evaluación del GH ácido y básico del estómago e intestino de totoaba y lenguado confirman lo anterior, pues ambas especies muestran mayores valores para la digestión ácida y menores para la digestión básica de las dietas experimentales (Tablas 7 y 12). Adicionalmente, la evaluación *in vitro* del GH de las dietas experimentales usando el sistemas tripsina-quimotripsina-proteasa alcalina fue aproximadamente el doble de eficiente en comparación con el extracto enzimático del intestino de la totoaba o del lenguado. Una observación similar fue reportada por Carter *et al.* (1999) para *Thunnus maccoyii*, donde la digestibilidad *in vitro* para la proteína cruda usando enzimas comerciales fue superior, entre 83-91%, de 74-89% usando enzimas de salmón, y finalmente de 65-85% usando las enzimas del atún evaluado. Por otra parte, el GH para el sistema de pepsina y el extracto enzimático de estómago tanto de totoaba como de lenguado fueron sumamente similares en su alto grado de digestibilidad de las dietas experimentales, lo que confirma una mayor eficiencia de actividad proteolítica del estómago de dichas especies. El análisis estadístico indicó un significativamente menor GH de la dieta 2 ($P=0.0033$) usando el extracto enzimático de la totoaba, y en el caso del lenguado, el GH fue significativamente menor también para la dieta 2, pero ésta no fue significativamente diferente de la dieta 1 ($P=0.0375$), lo que pudiera explicar el menor desempeño en crecimiento de ambos, totoabas y lenguados, alimentados con la dieta 2, aunque no logró detectarse alguna diferencia significativa en el desempeño en crecimiento entre los tratamientos experimentales, solo una tendencia. En contraste, altos valores para GH básico (71.60-73.46%) han sido reportados para peces omnívoros con tendencia al herbivorismo como la tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, lo que es consistente con sus hábitos alimenticios (González-Félix *et al.* 2010, 2011). A pesar de que la evaluación del GH es una herramienta útil para evaluar la hidrólisis de proteína causada por una reacción enzimática, no necesariamente representa con veracidad

el grado de digestibilidad *in vivo* de un alimento balanceado, por lo que, siempre que sea posible, se recomienda la utilización del análisis *in vivo* para evaluar la digestibilidad de un alimento balanceado o un ingrediente en particular (Minjarez-Osorio *et al.* 2012).

VII. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de cultivo del presente estudio, los resultados indican que el lenguado de Cortés se adaptó exitosamente a las condiciones de cautiverio y al alimento balanceado. En el caso de la totoaba, los organismos se adaptaron exitosamente al sistema de recirculación obteniéndose altas tasas de crecimiento durante los 56 días de experimentación.

No se detectaron diferencias significativas en los parámetros de desempeño biológico evaluados para totoabas y lenguados de Cortés alimentados con la dietas experimentales de 47, 52 y 55% de proteína cruda, por lo que, desde el punto de vista de rentabilidad de los cultivos, se recomienda una inclusión de 47% de proteína. Sin embargo, es recomendable evaluar menores niveles de inclusión.

La totoaba mostró una TCE y FCA muy deseables para un pez marino con potencial acuícola, incluso mejores que los de algunas especies actualmente cultivadas. En el caso del lenguado de Cortés, la TCE y el FCA son similares a valores reportados para otros lenguados de la misma familia. Este es el primer reporte de su cultivo a nivel experimental.

Ambas especies mostraron altos valores de supervivencia, que aunado a su desempeño en crecimiento, indica el gran potencial de cultivo de ambas especies.

Los análisis de grado de hidrólisis (%) de las dietas experimentales mostraron una baja hidrólisis básica y una alta hidrólisis ácida utilizando los extractos enzimáticos de intestino y estómago tanto del lenguado de Cortés como de totoaba, esto atribuido principalmente a los hábitos alimenticios carnívoros de ambas especies.

VIII. RECOMENDACIONES

Se plantean las siguientes recomendaciones para estudios futuros encaminados al cultivo experimental de totoaba y del lenguado de Cortés:

1. Determinar las condiciones óptimas de los parámetros ambientales de cultivo, tales como la temperatura, oxígeno disuelto, pH, amonio, nitritos y nitratos, ya que esto permitirá maximizar el crecimiento y manejo de ambas especies y a su vez, se tendrá un mejor control de dichas variables en los sistemas experimentales.
2. Formular dietas experimentales con inclusión de proteína menores a las utilizadas en este estudio para optimizar el requerimiento de proteína en formulaciones de alimento balanceado para ambas especies.
3. Realizar cultivos en tanques al exterior o en jaulas marinas sumergibles con alimentos de formulación similar y con densidades de siembra utilizadas en cultivos comerciales para observar la respuesta biológica de ambas especies en cultivos de mayor escala.
4. Evaluar el reemplazo de harina de pescado por ingredientes de origen vegetal para limitar su uso en formulaciones comerciales para dichas especies de pez marino sin detrimento de su crecimiento.
5. Finalmente se recomienda evaluar la digestibilidad *in vivo* de las dietas experimentales y correlacionarlas con pruebas de digestibilidad *in vitro* para ambas especies.

IX. LITERATURA CITADA

- Abdo-de la Parra, I., J. Camacho., B. González-Rodríguez., I. Martínez-Rodríguez., C. Hernández y A. García-Ortega. 2006. A preliminary study on the effects of dietary protein level on growth and survival of juvenile bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus*). *World Aquaculture*, 37: 34–37.
- Adler-Nisser, J. 1986. *Enzymatic Hydrolysis of Food Protein*. Elsevier Applied Science Publishers.
- Aksungur, N., M. Aksungur., B. Akbulut y I. Kutlu. 2007. Effects on stocking density on growth performance, survival and food conversion ratio of turbot (*Psetta maxima*) in the net cages on the southeastern coast of the black sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7: 147-152.
- Association of Official Analytic Chemists (AOAC). 2005. *Official methods of analysis Association of Analytical Chemists*, Arlington, VA, USA.
- Avilés, Q.S. 2005. *Fortaleza y debilidades de la acuicultura en México*. Comisión de pesca de la cámara de diputados. México.
- Baer, A. 2010. *Modelling of growth and mortality of turbot (Psetta maxima) reared in marine recirculation aquaculture systems*. Tesis de doctorado. Universidad de Kiel, Alemania. 100 p.
- Ballestrazzi, R., D. Lanari. y J.C. Navarro. 1996. Decreased 40:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture*, 149: 107-119.
- Bianchini, A., W. Wasielesky., Jr. y K.C.M, Filho. 1995. Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish *Paralichthys orbignyanus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 453-459.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic Biochemistry*, 72: 248-254.
- Carta Nacional Pesquera 2010. Documento Oficial de la Federación.
- Carter, C.G., M.P. Bransden., R.J. Van Barneveld. y S.M. Clarke. 1999. Alternative methods for nutrition research on the southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*: in vitro digestibility. *Aquaculture*, 179: 57–70.
- Castelló, O.F. 2000. Alimentos y estrategias de alimentación para reproductores y juveniles de peces marinos. En: R. Civera-Cerecedo, C.J Pérez-Estrada, D. Ricque-Marie y L.E. Cruz-Suárez. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. La Paz, B.C.S., México. 15-18 de Noviembre de 1998. p: 550-559.

- Catacutan, M.R., G.E. Pagador. y S. Teshima. 2001. Effect of dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios on growth, survival and body composition of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal, 1775). *Aquaculture Research*, 32:811–818.
- Castro-Aguirre, J.L., H. Espinoza y J.J. Schmitter-Soto. 1999. Ictiofauna Estuarino-Lagunar y Vicaria de México. Limusa. Balderas 95, México D.F.705 p.
- Chávez-Sánchez, M., L. Álvarez-Lajonchère, M. de la Parra y N. García-Aguilar. 2008. Advances in the culture of the Mexican bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*, Jenyns (1842). *Aquaculture Research*, 39: 718-730.
- Conklin, D.E., R.H. Piedrahita, G.E. Merino, J.B. Muguet, D.E. Bush, E. Gisbert, J. Rounds y M. Cervantes-Trujano. 2003 Development of California halibut, *Paralichthys californicus*, culture. *Journal of Applied Aquaculture*, 14: 143-154.
- Craig, S. y L.A. Helfrich. 2009. Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. Virginia Cooperative Extension, 420-256.
- Danancher, D. y E. Garcia-Vazquez. (2007) Turbot–*Scophthalmus maximus*. Genimpact Final Scientific Report (EU) RICA-CT-2005-022802: 55-61.
- Deloach, W. G. 1994. Growth rate, length-weight relationship and condition factor for saltwater grown juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). En: 46 proceedings of the forty-sixth annual gulf and Caribbean fisheries institute. p: 156-164.
- Davis, E.T. 1990. Red drum: production of food fish. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), 322.
- Del Rio-Salas, M.M. 2011. Abundancia estacional y composición isotópica de C y N del zooplancton relacionados a efluentes de granjas camaronícolas, en Bahía de Kino Sonora, México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora. 47 p.
- Ezquerria-Brauer, J.M. 1997. Tecnología enzimática en acuicultura: evaluación enzimática de la proteína dietaria por pH-STAT para la optimización de dietas para *Penaeus vannamei* cultivado. Tesis de doctorado en ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR).
- Ezquerria, J.M., F.L. García-Carreno. y O. Carrillo. 1998. In vitro digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 163: 123-136.
- FAO, 2010. Estadísticas de Pesca y Acuicultura 2008. FAO libro anual, Roma Italia. 221 p.
- Fisher, W., F. Krupp., W. Schneider., C. Soomer., K.E. Carpenter y V.H. Niem. 1995a. Guía Fao para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca Pacífico Centro-Oriental. Vol. III. Vertebrados: 1201-1813 p. En: D. A. Hensley (eds.). *Paralichthyidae*: 1349-1380. Roma, Italia.

- Fisher, W., F. Krupp., W. Schneider., C. Soomer., K.E. Carpenter y V.H. Niem. 1995b. Guía Fao para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacífico Centro-Oriental. Vol. III. Vertebrados: 1201-1813 p. En: N. L. Chao (eds.). Sciaenidae: 1427-1518. Roma, Italia.
- Forsberg J. M., P. W. Dorsett y W. H. Neill. 1996. Survival and growth of red drum *Sciaenops ocellatus* in saline groundwaters of west Texas, USA. *Journal of World Aquaculture Society*, 27: 462-474.
- Francis-Floyd, R. 2002. Fish Nutrition. *Institute of Food and Agriculture Sciences*, 114:1-4.
- Galaviz, M., L. López., J.P. Lazo, B. Barón-Sevilla y E. Durazo. 2009. The influence of dietary energy levels on growth performance, survival and food utilization of the California halibut (*Paralichthys californicus*) cultured under different temperatures. Poster: World Aquaculture Society, Veracruz México.
- García-Ortega, A., C. Hernández., I. Abdo de la Parra y B. González-Rodríguez. 2002. Advances in the nutrition and feeding of the bullseye puffer *Sphoeroides annulatus*. En: L.E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.G. Gaxiola-Cortés y N. Simoes, (eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, Quintana Roo, México. 3 al 6 de Septiembre del 2002.
- García-Ortega, A., I. Abdo., Y. Villa., y B. González. 2004. Effect of different dietary protein levels in growth, survival and body composition of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. VII simposio Internacional en Nutrición Acuícola. Universidad de Sonora, Hermosillo, México. 16-19 de Noviembre del 2004.
- García-Ortega. 2007. Prospectivas del cultivo de botete diana (*Sphoeroides annulatus*) en México. CIAD. Foro Internacional de Acuicultura. Mazatlán, Sinaloa.
- García-Ortega, A. 2009. Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiology Biochemistry*, 35: 69-80.
- Gatlin III, M.D. 2000. Nutrición de reproductores y juveniles de pece marinos. En: R. Civera-Cerecedo, C.J. Pérez-Estrada, D. Ricque-Marie y L.E. Cruz-Suárez. (eds) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. La Paz, B.C.S., México. 15-18 de Noviembre de 1998. p: 73-83.
- German, D.P., M.H. Horn. y A. Gawlicka. 2004. Digestive enzyme activities in herbivorous and carnivorous prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae): ontogenetic, dietary, and phylogenetic effects. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77: 789-804.

- González-Félix, M.L., Perez-Velazquez, M., Villalba-Villalba, A.G., Civera-Cerecedo, R., Marina Ezquerro, J. y Goytortúa-Bores, E. 2010. Tailoring a diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in northwest Mexico. *Journal of Marine Science and Technology*, 18: 674-681.
- González-Félix, M.L., M. Perez-Velazquez., L. Bringas-Alvarado., V. Cota-Moreno. y G. Navarro-García. 2011. Replacement of fishmeal by plant proteins in diets with different protein levels for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Sonora, Mexico. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 566: 8.
- Guillaume, J., S. Kaushik., P. Bergot y R. Métailler. 2001. *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*. Springer. , Heidelberg, Germany. 411 p.
- Halver, J.E. y R.W. Hardy. 2002. *Fish Nutrition*. Elsevier Sciences. 3ed. Orlando, Florida, USA. 353 p.
- Hargreaves, J. y C. Tucker. 2002. *Measuring Dissolved Oxygen Concentration In Aquaculture*. Southern Regional Aquaculture Center, 4601.
- Hasan, M.R. 2001. Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. En R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery y J.R. Arthur, Eds. *Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium*. Bangkok, Thailand. 20-25 de Febrero del 2000. p: 193-219.
- Honda, H., y K. Kikuchi. 1997. Management of a seawater recirculation fish culture system for Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *UJRN Technical Report*, 24:165-171.
- Jirsa, D.O., D.A. Davis. y C.R. Arnold. 1997. Effects of dietary nutrient density on water quality and growth of red drum *Sciaenops ocellatus* in closed systems. *J. World Aquaculture Society*, 28: 68-78.
- Kikuchi, K., T. Furuta., y H. Honda. 1994. Utilization of soybean meal as protein source in the diet of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Suizanzoshoku*, 42:601-604.
- Kikuchi, K. 2008. Macro nutrient requirement of japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. En: L.E. Cruz Suárez, D. Ricque Marie, M. Tapia Salazar, M. G. Nieto López, D.A. Villareal Cavazos, J.P. Lazo y Ma. Teresa Viana (eds). *Avances en Nutrición Acuícola. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. p: 108-122.
- Kunitz, M. 1949. The kinetics and termodinamics of reversible denaturation of crystalline soybean trypsin inhibitor. *Journal of Genetics and Physiology*, 30: 241-263.
- Lan C. y B. Pan, 1992. In vitro digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 109: 59-70.

- Lee P. y A.L. Lawrence. 1997. Digestibility. World Aquaculture Society, 6: 194-256.
- Lovell, T. 1998. Nutrition and Feeding of Fish. Public Academic Publisher. Segunda Edición. Norwel, Massachusetts, USA. 265 p.
- Luz, R. K., Martínez –Alvarez, R., De Pedro, N. y Delgado, M. J. 2005. Efecto de la salinidad en la regulación de la ingesta de alimento en el carpín: posible participación de las monoaminas hipotalámicas. En: X Congreso de Fisiología. Valencia, España. p: 220-221.
- MacGoogan, B.B. y D.M. Gatlin III. 1998. Metabolic requirements of red drum, *Sciaenops ocellatus*, for protein and energy based on weight gain and body composition. Journal of Nutrition, 128: 123-129.
- Martínez-Delgado, M.E. y M.A. Corona-García. 1992. Impacto de la pesca deportiva sobre las poblaciones y comunidades de *Totoaba macdonaldi* en la región de las grandes islas del Golfo de California, México. Reporte Técnico de Avance. II Reunión Plenaria del Comité Técnico para la Protección de la Vaquita Marina y la Totoaba. Hermosillo, Son. 10-11 de Diciembre de 1992.
- Martínez-Montaño, E. 2007. Digestibilidad proteica del lenguado de California (*Paralichthys californicus*): Ontogénesis y comparación de dos métodos de evaluación in vitro. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). 94p.
- Miles, R.D. y F.A. Chapman. 2007. The concept of ideal protein in formulation of aquaculture feeds. Institute of Food and Aquaculture Sciences, 144: 1-3.
- Miles, R.D. y F.A. Chapman. 2011. The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. Institute of Food and Aquaculture Sciences, 22: 1-5.
- Minjarez-Osorio, C., M.L. González-Félix., M. Perez-Velazquez. 2012. Biological performance of *Totoaba macdonaldi* in response to dietary protein level. Aquaculture, submitted.
- Miller, C.L., A.D. Davis., R.P. Phelps. 2005. The effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper, *Lutjanus campechanus* (Poey, 1860). Aquaculture Research, 36:52–60
- Molina-Valdez, D., M.A. Cisneros-Mata, R. Urías-Sotomayor, C. Cervantes-Valle y M.A. Márquez-Tiburcio. 1998. Prospección y evaluación de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en el Golfo de California. Centro Regional de Investigaciones Pesqueras. Guaymas, Sonora, México. (Inédito).
- Moughan, P.J., J. Schrama, G.A. Skilton y W.C. Smith. 1989. In vitro determination of nitrogen digestibility and lysine availability in meat and bone meals and comparison with in vivo ileal digestibility estimates. Journal of the Science of Food and Agriculture, 47: 281-292.

- Mullen, J.D. y J.P. Riley. 1955. The spectrophotometric determination of nitrate in natural waters, with particular reference to sea-water. *Analytic Chemistry Acta*, 12: 464-480.
- Pedrin-Osuna, O., J.H. Córdova-Murueta y M. Delgado-Marchena. 2001. Crecimiento y mortalidad de la totoaba, *Totoaba macdonaldi*, del Alto Golfo de California, *Ciencia Pesquera*, 14: 131-140.
- Perez-Arvizu, M.P. 2009. Efecto de la densidad de siembra en juveniles de lenguado de California *Paralichthys californicus* evaluado mediante indicadores de estrés. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). 68 p.
- Piaget, N., P. Toledo., A. Silva y A. Vega. 2011. Nivel óptimo de proteína dietaria para juveniles de lenguado *Paralichthys adspersus* (Pisces: Pleuronectiformes). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 46: 9-16.
- Reig, C.A. 2001. Influencia de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento y consumo de oxígeno de la dorada (*Sparus aurata*). Tesis de grado Maestría en Ciencias. Universidad de Barcelona, España. 64 p.
- Rolim, G.M. 2010. Crecimiento y tasa de ingestión de alimento de juveniles de cabrilla sardinera (*Mycteroperca rosacea*) bajo diferentes densidades de cultivo. Tesis de maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). 101 p.
- Romero J.J. y J.A. Manríquez. 1993. Esfuerzos desarrollados en Chile para disminuir el impacto ecológico de la alimentación en centros de cultivo de peces. Seminario internacional de acuicultura y medio ambiente. Santiago de Chile. 2-3 de Septiembre de 1993. 189 p.
- Rueda-López, S., J.P. Lazo., C. Reyes y M.T. Viana. 2011. Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture* 319: 385-390.
- Sabaut, J.J. y P. Luquet. 1973. Nutritional requirements of gilthead bream *Chrysophrys aurata* quantitative protein requirements. *Marine Biology*, 18: 50.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Un logro más... la recuperación de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*).
- Serafý, J.E., S.J. Lutz., T.R. Capo., P.B. Ortner., P.L. Lutz. 1995. Anchor tags affect swimming performance and growth of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Mar. Fresh. Behav. Physiol.*, 27: 29-35.
- Serrano, J.A., G.R. Nematipour y D.M. Gatlin III. 1992. Dietary protein requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbohydrate and lipid. *Aquaculture*, 101: 283-291.

- Shimeno, S. 1991. Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. En: R.P. Wilson (Editor), Handbook of Nutrient Requirements of Finfish, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Silva, A. y H. Flores. 1994. Observations on the growth of the Chilean flounder (*Paralichthys adspersus*, Steinachner, 1867) in captivity. En: P. Lavens y R. A. M. Remmersawaal (eds). Turbot culture: problems and prospects. European Aquaculture Society, 22: 323-332.
- Solarzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. Limnology and Oceanography, 14: 799-801.
- Spotte, S. 1979a . Fish and invertebrate culture: Water management in closed systems. 2 ed. Wiley, New York, USA. 179 p.
- Spotte, S. 1979b. Seawater aquariums: the captive environment. Wiley, New York, 413 p.
- Strickland, J.D.H. y T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2ed. Bull. 167, Fish. Res. Board Can., Ottawa, 310 p.
- Svobodová, Z., R. Lloyd., J. Máchová. Y B. Vykusová. 1993. Water Quality and Fish Health. EIFAC Technical Paper. FAO. Rome, Italia. 59 p.
- Takeuchi, T., Y. Shiina y T. Watanabe. 1991. Suitable protein and lipid levels in diets for fingerlings of red sea bream, *Pagrus major*. Nippon Suisan Gakkaishi, 58: 509-514.
- Talavera, V. 1997. Alimento balanceado para acuicultura de camarones. Boletín Nicovita, 2: 8.
- Tomasso, J.R. y C. J. Kempton. 2000. Effects of temperature on production characteristics of red drum, *Sciaenops ocellatus*. Journal of Applied Aquaculture, 10: 73-78.
- Turker, A. 2006. Effects of feeding frequency on growth, feed consumption and body composition in juvenile turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758) at low temperature. Turkish journal of Veterinary and Animal Sciences, 30: 251-256.
- Watanabe, T. 1988. Fish nutrition and mariculture. Ed. T. Watanabe. Tokio, Japón. University of Fisheries. 233 p.
- Watanabe, W.O., S.C. Ellis., J. Chaves. 2001. Effects of dietary lipid and energy to protein ratio on growth and feed utilization of juvenile mutton snapper *Lutjanus analis* fed isonitrogenous diets at two temperatures. Journal of the World Aquaculture Society, 32:30-40.
- Wise, D.J., C.R. Weirich y J.R. Tomasso. 1989. Toxicity of ammonia to red drum *Sciaenops ocellatus* fingerlings with information on uptake and depuration. Journal of the World Aquaculture Society, 20: 188-192.
- Wise, D.J. y J.R. Tomasso. 1989. Acute toxicity of nitrite to red drum *Sciaenops ocellatus*: Effects of salinity. Journal of the World Aquaculture Society, 20: 193-198.

- Wurts, W.A. 1993. Growth rates of juveniles red drum *Sciaenops ocellatus* reared on commercial salmon feed in fresh and salt water. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24: 422-424.
- Wurts, W.A. y R.R. Stickney. 1993. Growth rates of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus* reared on commercial salmon feed in fresh and salt water. *J. World Aquaculture Society.*, 24: 422-424.
- Zacarias-Soto M., J.B Muguet y J.P. Lazo. 2006. Proteolytic activity in California halibut larvae *Paralichthys californicus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37(2): 175-185.
- Zar, J.H.1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. Englewood, New Jersey. 663 p.