



**Centro de Investigación en
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

Sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya y complementación de DL-metionina en dietas para pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869), y su efecto sobre el crecimiento y utilización del alimento

Por:

Kattia Yolanda Preciado Iñiguez

Tesis aprobada por

UNIDAD MAZATLAN

EN ACUICULTURA Y MANEJO AMBIENTAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

MAZATLÁN, SINALOA

NOVIEMBRE DE 2010

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permite citas breves sin permiso especial del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Se podrá solicitar permiso al Director del Centro o Jefe del Área correspondiente del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. apartado postal 1735, Hermosillo, Sonora C.P. 83000 México, para citas o consultas más completas con fines académicos. En otras circunstancias, se deberá solicitar permiso del autor.

La publicación en comunidades científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa aprobación escrita del director.

Dr. Ramón Pacheco Aguilar
Director General del CIAD, A. C.

APROBACIÓN

Los miembros de este comité designado para revisar la tesis de Kattia Yolanda Preciado Iñiguez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, con especialidad en Acuicultura.

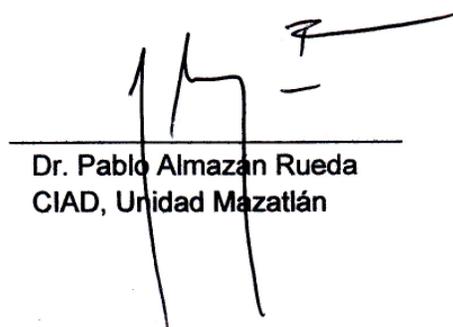


Dr. Armando García Ortega
Director de Tesis

COMITÉ DE TESIS



Dra. María Dolores Múy Rangel
CIAD, Unidad Culiacán



Dr. Pablo Almazan Rueda
CIAD, Unidad Mazatlán

Dr. Francisco J. Martínez Cordero
CIAD, Unidad Mazatlán

DEDICATORIAS

Del salón en el ángulo oscuro,
de su dueña tal vez olvidada,
silenciosa y cubierta de polvo,
veíase el arpa.

¡Cuánta nota dormía en sus cuerdas,
como el pájaro duerme en las ramas,
esperando la mano de nieve
que sabe arrancarlas!

¡Ay!, pensé; ¡cuántas veces el genio
así duerme en el fondo del alma,
y una voz como Lázaro espera
que le diga «Levántate y anda»!

Gustavo A. Bécquer

A mis padres:

Yolanda Iñiguez Zatarain

Jesús María Preciado Romero

A mis hermanos:

Jesús Leonardo Preciado Iñiguez

Pedro Valente Preciado Iñiguez

A mis sobrinos:

Amelia Sofía Preciado Cazares

Pedro Valente Preciado Cazares

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme fortaleza y voluntad en todo momento, así como sus bendiciones brindadas.

Al Dr. Armando García Ortega, por su dirección, consejos así como confiar en mí para la realización de este trabajo de investigación.

Al personal de laboratorio de Nutrición y Larvicultura, en especial a M.C. Blanca González Rodríguez, por su apoyo incondicional en lo profesional y personal.

Al departamento compras María del Socorro Sarabia Estrada y José Martín Guerra Vizcarra.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada durante el periodo de la maestría, y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán, por las facilidades y el apoyo económico brindados para la realización de esta maestría.

Al Centro Estatal de Ciencia y Tecnología (CECyT) por la beca otorgada para la finalización de esta tesis de maestría.

A los miembros del comité de tesis: Dra. María Dolores Muy Rangel, Dr. Pablo Almazán Rueda y al Dr. Francisco Martínez, por sus correcciones, aportaciones y sugerencias para este trabajo.

Así también me gustaría agradecer especialmente al CIAD, unidad Culiacán, por permitirme realizar el perfil de aminoácidos en esta institución. En especial a M.C. Laura Contreras Angulo, por la dedicación y su apoyo incondicional para la estandarización de la técnica de oxidación de cisteína, así mismo por permitirme entrar a su hogar y conocer a su familia. Al personal del laboratorio de Instrumental y Calidad postcosecha Rosabel Veléz, Rosalba Contreras, Linda, Roberto, Antonio, Mariana, Wendy, Polaco. A Lindsay Villa Sánchez y Yazmin Flores por permitirme hospedarme en su hogar durante la estancia en la ciudad de Culiacán.

Al Dr. Bernard Wathelet y Kabir Chowhurry por brindarme sus conocimientos y consejos para la estandarizar la técnica de oxidación de cisteína.

Al Dr. Dominique P. Bureau por permitirme realizar una estancia en la Universidad de Guelph en Canadá y a todo el personal del laboratorio de

nutrición acuícola Jamie, Kabir, Guillaume, Wendy, David, Simone y Nik por su amistad y apoyo incondicional durante mi estancia en dicha institución.

A mis compañeros de maestría Cecilia Bastidas, Héctor Canseco y Mauricio Escalante por su apoyo incondicional durante los experimentos.

El trabajo de investigación en esta tesis no fue financiado con proyectos CONACYT o de alguna otra fuente de financiamiento Estatal o Sectorial. El financiamiento fue provisto por ingresos propios del Dr. García Ortega.

INDICE

Contenido	Página
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	8
2.1. Estudio de Sustitución de Harina de Pescado por Fuentes Vegetales en peces marinos.	8
2.2. Estudios de Sustitución de Harina de Pescado por Proteína de Concentrado de Soya en peces marinos.....	11
2.3. Estudios sobre Aminoácidos en Alimentos para Acuicultura	13
2.3.2. Metionina	18
2.4. Estudios sobre Requerimiento de Metionina en Peces.....	22
2.5. Peces de la Familia Lutjanidae	25
2.5.1. Morfología de <i>Lutjanus guttatus</i>	26
2.5.2. Hábitos Alimenticios	27
2.6. Nutrición y Alimentación del Pargo lunarejo en Acuicultura	27
3. HIPÓTESIS	29
4. OBJETIVOS.....	30
4.1 Objetivo General.....	30
4.2 Objetivos Específicos.....	30
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
5.1. Formulación de Dietas Experimentales	31
5.1.1. Experimento 1	31
5.1.2. Experimento 2	33
5.2. Elaboración de Dietas Experimentales	34
5.3. Análisis Proximal de Dietas y Peces.....	36
5.4. Análisis de Aminoácidos.....	36
5.4.1. Hidrólisis.....	37
5.4.2. Derivatización.....	37
5.4.3. Oxidación	38
5.5. Peces de Estudio.....	42

5.6.	Sistema Experimental.....	42
5.7.	Régimen de Alimentación.....	43
5.8.	Parámetros Ambientales.....	44
5.9.	Evaluación de Crecimiento.....	44
5.10.	Índices de Crecimiento, Utilización del Alimento y Económico.....	46
5.11.	Análisis Estadístico.....	48
6.	RESULTADOS.....	50
6.1.	Experimento 1.....	50
6.1.1.	Análisis Proximal de las Dietas Experimentales.....	50
6.1.3.	Análisis Proximal de los Peces.....	52
6.1.4.	Perfil de Aminoácidos del Músculo de Peces.....	53
6.1.5.	Parámetros de Crecimiento y Utilización del Alimento.....	55
6.1.5.1.	Incremento en Peso.....	55
6.1.5.2.	Tasa de Crecimiento y Tasa de Crecimiento Especifico.....	57
6.1.5.3.	Consumo del Alimento.....	57
6.1.5.4.	Tasa de Consumo Alimenticio.....	57
6.1.5.5.	Tasa de Eficiencia en el Alimento.....	58
6.1.5.6.	Tasa de Eficiencia Proteica.....	58
6.1.5.7.	Utilización Neta de Proteína.....	59
6.1.7.	Tasa de Eficiencia Económica (TEE).....	61
6.2	Experimento 2.....	64
6.2.1	Análisis Proximal de Dietas Experimentales.....	64
6.2.2	Perfil de Aminoácidos de Dietas Experimentales.....	65
6.2.3	Análisis Proximal de Peces.....	67
6.2.4	Perfil de Aminoácidos en el Músculo de Peces.....	68
6.2.5	Parámetros de Crecimiento y Utilización del Alimento.....	70
6.2.5.1	Incremento en Peso.....	70
6.2.5.2	Tasa de Crecimiento y Tasa de Crecimiento Especifico.....	74
6.2.5.3	Consumo de Alimento.....	74
6.2.5.4	Tasa de Consumo Alimenticio.....	75
6.2.5.5	Tasa de Eficiencia en el Alimento.....	75

6.2.5.6	Tasa de Eficiencia Proteica	75
6.2.5.7	Utilización Neta de Proteína	76
6.2.6	Tasa de Eficiencia Económica (TEE).....	77
7.	DISCUSIONES.....	80
7.1.	Experimento 1.....	80
7.1.1.	Análisis proximal, Perfil de Aminoácidos de dietas experimentales y de filete de pescado.	80
7.1.2.	Crecimiento	83
7.1.3.	Consumo del Alimento, Tasa de Conversión Alimenticia y Tasa de Eficiencia en el Alimento.	85
7.1.4.	Tasa de Eficiencia Proteica y Utilización Neta de Proteína.....	86
7.1.4.	Tasa de Eficiencia Económica	88
7.2.	Experimento 2.....	90
7.2.1.	Análisis Proximal y Perfil de Aminoácidos de las dietas.....	90
7.2.2.	Crecimiento y tasa específica de crecimiento	92
7.2.3.	Tasa de conversión alimenticia, eficiencia en el alimento	95
7.2.4.	Tasa de Eficiencia Proteica y Utilización Neta de Proteína.....	96
7.2.5.	Tasa de Eficiencia Económica	99
8.	CONCLUSIONES	101
8.1.	Experimento 1.....	101
8.2.	Experimento 2.....	102
9.	LITERATURA CITADA.....	103
10.	ANEXO 1.....	1101

INDICE DE TABLAS

Contenido	Página
Tabla 1. Aminoácidos esenciales y no esenciales.....	14
Tabla 2. Funciones de los aminoácidos en funciones metabólicas y fisiológicas en animales acuáticos (P. Li <i>et al.</i> , 2009).....	15
Tabla 3. Formulación de dietas experimentales para sustituir harina de pescado por concentrado de proteína de soya.....	17
Tabla 4. Composición proximal (% Peso seco) de las materias primas utilizadas para la formulación de las dietas en el experimento 1, de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.....	32
Tabla 5. Formulación de dietas experimentales para incluir DL - Metionina en dietas de pargo flamenco	32
Tabla 6. Análisis proximal de las dietas utilizadas en el experimento de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya a distintos niveles, en el <i>Lutjanus guttatus</i>	33
Tabla 7. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales utilizadas en el experimento de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya en el <i>L. guttatus</i> (% proteína base seca).....	51
Tabla 8. Composición proximal de peces enteros de <i>lutjanus guttatus</i> al inicio y al final del experimento alimentados con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.....	52
Tabla 9. Perfil de aminoácidos de filete de <i>L. guttatus</i> en el experimento de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya (% proteína base seca).....	53
Tabla 10. Parámetros de crecimiento y consumo del alimento del pargo flamenco alimentado con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, durante un periodo de 8 semanas. TC% = Tasa de Crecimiento; TCE (%) = Tasa de Crecimiento Específico (día ⁻¹); TCA = Tasa de Conversión Alimenticia; TEP (%)= Tasa de Eficiencia Proteica; UNP (%) = Utilización Neta de Proteína.....	54

Tabla 11. Resultados de Costo del alimento y Tasa de Eficiencia económica en el experimento de sustitución de HP por CPS.....	56
Tabla 12. Análisis proximal de las dietas utilizadas en el experimento de suplementación de diferentes niveles de DL - metionina, en el <i>L. guttatus</i> ...	62
Tabla 13. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales utilizadas en el experimento de suplementación de diferentes niveles de DL- metionina en el <i>L. guttatus</i>	65
Tabla 14. Perfil de aminoácidos de filete de <i>L. guttatus</i> en el experimento de inclusión de diferentes niveles de DL – metionina. (% proteína base seca).	66
Tabla 15. Parámetros de crecimiento y consumo de alimento del pargo flamenco alimentado con diferentes niveles de inclusión de DL.- Metionina durante un periodo de 12 semanas. TC (%) = Tasa de Crecimiento; TCE (%) = Tasa de Crecimiento Especifico (dia^{-1}); TCA = Tasa de conversión alimenticia. TEA = Tasa de Eficiencia en el Alimento. TEP = Tasa de Eficiencia Proteica. UTP = Utilización Neta de Proteína.....	68
Tabla 16. Resultados de Costo del alimento y Tasa de Eficiencia económica en el experimento de sustitución de HP por CPS.....	69
Tabla 17. Parámetros de crecimiento y consumo de alimento del <i>L. guttatus</i> alimentado con diferentes niveles de inclusión de DL.- Metionina durante un periodo de 12 semanas. TC (%) = Tasa de Crecimiento; TCE (%) = Tasa de Crecimiento Especifico (dia^{-1}); TCA = Tasa de conversión alimenticia. TEA = Tasa de Eficiencia en el Alimento. TEP = Tasa de Eficiencia Proteica. UTP = Utilización Neta de Proteína.....	72
Tabla 18. Resultados de Costo del alimento y Tasa de Eficiencia económica (TEE) en el experimento de sustitución de HP por CPS.....	78

INDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Formula química de la metionina	13
Figura 2. Roles de los aminoácidos en el crecimiento, desarrollo y salud en los peces	16
Figura 3. Fórmula química de la metionina	18
Figura 4. Ciclo de la metionina (Groff <i>et al.</i> , 2004).....	21
Figura 5. Pargo lunarejo (<i>Lutjanus guttatus</i>) organismo cultivado en cautiverio y resultado del primer experimento del presente trabajo. Peso: 60 g. Longitud: 15 cm.....	26
Figura 6. Elaboración de dietas experimentales: a) Ingredientes previamente pesados, listos para utilizarse, b) Homogenización de ingredientes, c) Peletizado de la mezcla homogénea, d) Alimento en desecador, e) alimento secado y peletizado, f) Almacenamiento en refrigeración.	35
Figura 7. Hidrolisis de la muestra para determinación de perfil de aminoácidos por HPLC: a) Pesar la muestra, b) Inyección de HCL 6 M, c) Muestras con HCL, d) Vacío por 3 min, e) Baño seco por 12 hrs a 110 °C, f) Lavados de muestra en rota vapor, g) obtención de muestra con buffer de citrato de sodio.	39
Figura 8. Inyección de la muestra al cromatografo liquido de alta resolución: a) Adición de OPA a la muestra, b) derivatización de la muestra, c) Filtración de la muestra, d) Toma de muestra derivatizada, e) Inyección de la muestra al cromatografo.	40
Figura 9. Oxidación de la muestra para determinación de cisteína: a) Peso de la muestra, b) Preparación de solución oxidante en baño frio, c) Adición de sol. Oxidante a las muestras, d) Oxidación de la muestra en baño seco, e) liofilización de las muestras oxidadas, f) muestras liofilizadas listas para hidrolizarse.	41

Figura 10. Sistema experimental utilizado en ambos experimentos.	43
Figura 11. Medición de Oxígeno y temperatura.	44
Figura 12. Evaluación de crecimiento.	45
Figura 13. Crecimiento de <i>L. guttatus</i> alimentado con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, durante un periodo de 8 semanas	55
Figura 14. Tasa de eficiencia proteica del <i>L. guttatus</i> alimentado con diferentes niveles de reemplazo de harina de pescado por CPS.....	59
Figura 15. Utilización Neta de Proteína del <i>L. guttatus</i> en la evaluación de diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por CPS.	60
Figura 16. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona el crecimiento en incremento en peso, con respecto al nivel de reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.....	61
Figura 17. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona la Tasa de Eficiencia Económica respecto al nivel de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.	63
Figura 18. Crecimiento de pargo flamenco alimentado con diferentes niveles de inclusión de DL - metionina, durante un periodo de 12 semanas.	71
Figura 19. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona el crecimiento en incremento en peso, con respecto al nivel de inclusión de DL-metionina.....	73
Figura 20. Tasa de Eficiencia Proteica en la determinación de la complementación de diferentes niveles de DL-metionina en el <i>L. guttatus</i> durante un periodo de 12 semanas.	76
Figura 21. Utilización Neta de Proteína en la determinación de inclusión de DL-metionina en el <i>L. guttatus</i>	77
Figura 22. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona la Tasa de Eficiencia Económica, con respecto al nivel de inclusión de DL-metionina.	79

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de sustituir harina de pescado por concentrado de proteína de soya y la complementación con DL- metionina para el pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, y su efecto sobre el crecimiento y la utilización del alimento. Para lo cual se realizaron dos experimentos, el primero con una duración de 8 semanas y 12 semanas para el segundo. Para ambos experimentos se realizó un análisis económico comparativo de las dietas, con el fin de analizar cómo se comporta la inclusión de CPS y DL-metionina cuando se incluyen las variables de costo del alimento, tasa de conversión alimenticia y peso ganado. Para el primer experimento se incluyeron fuentes de proteína de harina de pescado, calamar fresco, acemite de trigo y concentrado de proteína de soya (CPS). Como fuentes de lípidos se utilizó aceite de pescado. Se usaron organismos de pargo lunarejo con un peso promedio de 16.7 ± 0.6 g para el primer experimento y 20.5 ± 2.8 g para el segundo, los cuales fueron colocados en tanques de fibra de vidrio de 600 L, a una densidad de 12 organismos por tanque. La alimentación se realizó a saciedad aparente, con dos raciones diarias (9:00 y 15:00 hrs). En el primer experimento se evaluó el efecto de reemplazar la harina de pescado por CPS, en niveles de 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 100%. Las diferencias entre el incremento en peso y TCE (% dia^{-1}) no fueron significativamente diferentes entre los niveles del 0-50%, y el mejor crecimiento en el remplazo fue presentado en los peces con una sustitución del 30 y 40%. El análisis de regresión polinomial realizado con la TC (%) y los niveles de sustitución, indico un optimo de crecimiento en un nivel de remplazo de 24.2% de harina de pescado por CPS. La concentración de metionina en las dietas experimentales disminuyó con forme el aumento en el nivel de remplazo de harina de pescado por CPS, lo que pudo haber influido en el crecimiento de los organismo entre los diferentes tratamientos. La TEE tendió a aumentar conforme se incrementaba el nivel de sustitución de harina de pescado por CPS, sin embargo se mostró una TEE similar con la dieta control y el 40% de sustitución de CPS. La regresión polinomial utilizando TEE y los niveles de sustitución de CPS muestran un nivel optimo de inclusión de CPS de 21.45%. Para el segundo experimento se formularon varios niveles de inclusión de DL-metionina (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5%), y una dieta control con harina de pescado. La formulación de las dietas en donde se encuentran los niveles de complementación de metionina utilizaron una formulación de 50% harina de pescado y 50% CPS. La ganancia en peso y la TCE (% dia^{-1}) no presentó diferencias significativas entre la dieta control y los tratamientos de 0.5, 1, 1.5 y 2% de inclusión de metionina. Los mejores resultados de crecimiento se presentaron en las dietas de 1-1.5%. Los resultados muestran una tendencia de incremento en peso con forme se hace la complementación de metionina, hasta llegar a una máximo (1.5%) y posteriormente disminuir su crecimiento. La regresión polinomial indicó una complementación optima de metionina del 1.16%. Los resultados de HPLC indican que la metionina y la cisteína incrementan conforme se hace su inclusión en las dietas. Por lo que la inclusión optima de metionina se encontró al 1.16% en presencia de 1.07% de cisteína.

1. INTRODUCCIÓN

Por largos años las pesquerías han proporcionado la mayor parte de los productos acuáticos comestibles; sin embargo en años recientes la producción pesquera llegó a su límite máximo. Esto significa que, la demanda de consumo de productos marinos sigue en aumento al igual que la población mundial pero las capturas de pesquerías se han estancado. Por lo que para satisfacer las demanda de pescados y mariscos se han buscado alternativas para resolver este problema, principalmente apoyándose en la acuicultura (FAO, 2009; Salze *et al.*, 2010).

De acuerdo a las estadísticas más recientes de la FAO (2009), se reporta que la acuicultura es el sector productivo con un promedio de crecimiento anual del 9.2% desde 1974 comparado con la pesca de captura que reporta un crecimiento del 1.4% y de 2.8% en la producción de carne a base de crías de animales terrestres. Además la acuicultura en el 2006 proporcionó el 47% de las 110 millones de toneladas de los productos acuáticos, casi la mitad de la demanda mundial.

Para sostener el ritmo actual de crecimiento de la acuicultura a nivel mundial, se requieren alimentos acuícolas que dependan menos de los ingredientes de origen marino para lograr la sustentabilidad en la producción, ya que la harina de pescado continúa incrementado su precio. De acuerdo al índice mundial de precios de ingredientes básicos, en la última década la harina de pescado en la última década ha incrementado su precio en un 266%, llegando a un precio máximo de 1896 dólares la tonelada métrica en abril del 2010 (<http://www.indexmundi.com/commodities/?commodity=fish-meal&months=120>).

En años recientes se ha investigado el uso de proteínas y aceites de origen vegetal como alternativa sustentable para la sustitución de la harina y aceite de pescado en alimentos de acuicultura. Ya que es preferible la utilización del producto pesquero para consumo humano, que para uso en engorda de animales (Gatlin *et al.*, 2007). Por lo tanto es necesaria la formulación de dietas reemplazando la harina de pescado por otros ingredientes. Estas dietas deberán mantener, las tasas de crecimiento de los organismos acuáticos, mejoren las estrategias de alimentación y que conserven alimentos de buena calidad con niveles de nutrientes adecuados para la especie (Catacun *et al.*, 2004; Martínez-Llorenz *et al.*, 2008).

En cuanto a proteínas de origen vegetal, la proteína de soya es la más utilizada en la producción de alimentos para la acuicultura con una producción anual de 30 millones de toneladas, tan solo en Estados Unidos (Zhou *et al.*, 2005). Además tiene cantidades adecuadas de proteína (30%) y un perfil de aminoácidos relativamente balanceado, por lo que es considerada uno de los productos más estables para la sustitución de la harina de pescado en alimentos de dietas comerciales para peces (Gatlin *et al.*, 2007). Sin embargo una de las desventajas que presenta el uso de este producto comparado con la haría de pescado es una disminución en el contenido de proteína, digestibilidad y presencia de factores anti-nutricionales (Catacutan *et al.*, 2004).

En los últimos años gracias a los avances en biotecnología, es posible la obtención de diferentes tipos de concentrados de proteínas de soya de mejor digestibilidad, contenido de proteína y una disminución en factores anti nutricionales, dependiendo el tipo de procesamiento que se le aplique. En este caso el concentrado de proteína de soya (CPS) es producido mediante la selección de granos de soya de alta calidad, los cuales son lavados y descascarados, después el aceite es extraído para utilizarse como aceite de cocina o para la industria como biodiesel. El residuo consiste en granos desgrasados los cuales pueden ser utilizados para la producción de soya en polvo, proteína de soya o concentrados de proteína de soya

(<http://www.asaimtaiwan.org/SPCforAquaculture.pdf>). A continuación la harina de soya desgrasada es sometida a una extracción de metanol o etanol dando como resultado un contenido de proteína cruda de 65-70% con una digestibilidad similar a la harina de pescado; además, estas extracciones remueven o desactivan los factores anti nutricionales, los carbohidratos solubles y la fibra presentes en la soya. Estas adecuaciones tecnológicas para la producción de concentrados de proteína de soya podrían favorecer disminuyendo el precio y aumentando la disponibilidad. (Catacutan *et al.*, 2004; Deng *et al.*, 2006; Salze G. *et al.*, 2010).

Aunque existen diferentes tipos de concentrados de proteína de soya, uno de los más usados es el texturizado, en donde al concentrado de proteína de soya se le aplica un proceso de extrusión conducido a humedades de entre el 20 a 30% y temperaturas de 120 a 180°C (<http://www.asaimtaiwan.org/SPCforAquaculture.pdf>).

Como todos los productos de la soya, el concentrado de proteína de soya presenta deficiencias de aminoácidos como la lisina y metionina, amino ácidos que promueven la síntesis de proteína y el crecimiento en peces. Es posible corregir este déficit mediante la administración de estos aminoácidos en la dieta para mejorar el crecimiento en el organismo. Sin embargo en diversos trabajos se ha reportado que en inclusiones altas de concentrado de proteína de soya en las dietas reduce la palatabilidad del alimento lo que reduce su ingesta y el crecimiento en los peces (Day y Plascencia 2000; Kissil *et al.*, 2000; Catacun *et al.*, 2004; Deng *et al.*, 2006).

La metionina, es un aminoácido esencial por lo que debe ser obtenido a través del alimento, pertenece al grupo de los aminoácidos sulfurados al igual que la cisteína, tiene un papel importante en la metilación, síntesis de proteína y crecimiento en peces.

Investigaciones recientes en animales acuáticos y terrestres han arrojado evidencia de que la administración de aminoácidos a las dietas controla los

patrones metabólicos de crecimiento por lo que ha mantenido o mejorado las tasas de crecimiento y conversión alimenticia en así como la respuesta inmune y reproducción. Por lo que se les conoce como aminoácidos funcionales que pueden contrarrestar los efectos adversos al sustituir las proteínas de origen animal por fuentes de origen vegetal (Li, *et al* 2009).

México se encuentra rodeado por el Océano Pacífico y el Océano Atlántico, por lo que cuenta con gran biodiversidad de animales acuáticos, donde la pesca y la acuicultura son actividades de gran relevancia. Sin embargo, además de practicar la maricultura, también en la acuicultura se aprovechan grandes extensiones de tierra, ríos, embalses y esteros. La especie marina que más se cultiva en México en la actualidad es el camarón, siendo los estados de Sonora y Sinaloa líderes en su producción. Sin embargo, existe un gran potencial para el cultivo de otras especies marinas, especialmente los peces.

En México se han identificado a varias especies con potencial comercial entre las que se encuentra el botete diana (*Sphoerodes anulatus*) y el pargo lunarejo (*Lujanus guttatus*) debido a que son preferidas por el gusto de la población para consumo humano.

El pargo lunarejo es un pez demersal que en su vida silvestre se encuentra solitario o en pequeños cardúmenes; es un depredador y su dieta se basa en el consumo de moluscos, crustáceos, peces y poliquetos (Rojas y Maravillas, 2004). Estudios realizados en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Unidad Mazatlán, demuestran que el cultivo del pargo lunarejo tiene potencial ya que se ha adaptado exitosamente a las condiciones de cultivo en cautiverio, obteniendo desoves continuos durante los meses de agosto a noviembre. El control en la producción de larvas y juveniles es influenciado mayormente por aspectos nutricionales, por lo que investigaciones en el destete temprano se han realizado para la especie usando alimento vivo y enriquecedores (García–Ortega *et al.*, 2005). En juveniles y peces de engorda mayores de 100 g se han determinado requerimientos de proteína y lípidos, los cuales son de 45% de proteína y de 9% lípidos (Hernández 2007) y de 40% de

proteína y 11% de lípidos en los peces de engorda (García-Ortega *et al.*, 2004; García-Ortega, 2009). También se determinó el requerimiento de vitamina C el de 47 mg/kg (Osuna, 2009) y de astaxantina de 0.75 g/kg (Rodríguez Moreno, 2009), este último utilizado como colorante artificial para una pigmentación adecuada en la piel del *L. guttatus*.

Debido a que no existen trabajos en donde se han probado ingredientes de origen vegetal como fuente de proteína en alimentos para pargos en México en este estudio se evaluaron el concentrado de proteína de soya como sustituto parcial y total de la harina de pescado en alimentos para *L. guttatus*. Asimismo, se probó la complementación de metionina en dietas formuladas con CPS para determinar su efecto en el crecimiento de juveniles de pargo lunarejo.

2. ANTECEDENTES

2.1. Estudio de Sustitución de Harina de Pescado por Fuentes Vegetales en peces marinos.

En acuicultura se han probado distintos tipos de fuentes de proteína de origen vegetal durante las últimas décadas, la más usada es la soya debido a su bajo costo y disponibilidad, sin embargo hay trabajos en los que utilizan harina de canola, trigo, maíz y girasol para reemplazar parcialmente la harina de pescado en dietas para peces de agua dulce o marina.

Entre los trabajos donde se sustituye la harina de pescado en peces marinos se encuentran el uso de harina de soya desgrasada en el pargo rojo de manglar *Lutjanus argentimaculatus*, esta especie es de importancia comercial en Asia y su cultivo ya se encuentra desarrollado, por lo que la disminución de harina de pescado en la formulación de sus dietas es indispensable para mejorar los costos en la producción de esta especie; así como mantener las tasas de crecimiento similar a la especie desarrolladas con dietas formuladas a base de harina de pescado. Los resultados obtenidos en este trabajo con organismos de 5 g durante 19 semanas fueron favorables, ya que no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) para crecimiento en sustituciones de 12.5, 25, 37.5 y 50%. Sin embargo la tendencia de crecimiento del pez tiende a disminuir al 50%. De manera similar la tasa de conversión alimenticia tiende a aumentar al incluir la soya desgrasada en las dietas, sin embargo no presentó diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos, por lo que es factible el uso de soya desgrasada para las dietas del pargo rojo de manglar (Catacutan y E. Pagador, 2004).

En la lubina de mar Europea (*Dicentrarchus labrax*), utilizaron una combinación de harina de trigo, soya, canola, maíz como fuente principal de proteína en la dieta, por lo que incluyeron harina de pescado al 52, 40, 25 y 5% para conocer el requerimiento de harina de pescado de esta especie. Los resultados muestran que para crecimiento las dietas con mayor contenido de harina de pescado (52 y 40%) tuvieron mejor respuesta de crecimiento de los peces que las del 5% de inclusión de harina de pescado. Sin embargo no presentaron diferencias de crecimiento entre sus tratamientos y, concluyen que el uso de aminoácidos complementan las deficiencias presentes en las harinas vegetales, así como el uso de mezclas de proteínas y atractantes, tendrá resultados favorables en crecimiento y será determinante para la elaboración de dietas prácticas en la acuicultura de la lubina de mar (Kaushik *et al.*, 2004).

En la dorada *Sparus aurata*, se usó harina de trigo para sustituir a la harina de pescado al 13.5, 27, 40.6 y 54.2%, sin encontrar diferencias entre las dietas del 13.5 al 40.6% de sustitución. Sin embargo la dieta del 54% tuvo un menor crecimiento en comparación con los peces del resto de los tratamientos. Los organismos de estudio tuvieron un crecimiento de 25 g contra 33 g en peces con una dieta al 27% de sustitución de harina de pescado por harina de trigo, donde el posible efecto se relacionó con una disminución en la lisina y la metionina en la dieta con soya, aminoácidos que son esenciales para un adecuado crecimiento en los peces (Pereira y Oliva, 2003).

Sánchez– Lozano *et al.*, (2007), estudiaron en la dorada la sustitución de harina de pescado por harina de girasol al 12, 24 y 36%, complementadas con metionina y lisina; y encontraron mayor crecimiento en los peces alimentados con la dieta con 12% de sustitución que la dieta control y se vió afectado en sustituciones del 24 y 36% siendo diferente significativamente ($P < 0.05$). Con respecto a la ingesta del alimento, los peces con el 36% de sustitución ingirieron mas alimento que los peces en el resto de los tratamientos. Por lo que se concluye que es posible que aunque consumían mayor cantidad de alimento,

las dietas no se encontraban con un contenido adecuado de lisina, comparado con la dieta control.

En un experimento más reciente llevado a cabo por Martínez–Llorenz *et al.*, (2008), obtuvieron resultados similares al anterior con la *S. aurata* donde la sustitución del 26% de la harina de pescado por harina de soya y complementando con metionina y lisina, favorecieron el crecimiento del pez ya que al reducir la deficiencia de aminoácidos esenciales en la dieta del pez, este continua su desarrollo de forma normal.

El Bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) es un pez marino de climas templados y de gran importancia comercial, durante las últimas décadas su cultivo se a incrementado, debido a la disminución de las capturas por parte de las pesquerías, por lo que su costo ha incrementado. La sustitución de harina de pescado por de haría de soya, gluten de trigo, maíz y concentrado de soya dió buenos resultados en el experimento realizado por Hansen *et al.*, (2007). El mejor resultado fue la mezcla de 22% de concentrado de soya y 11% gluten de trigo en el crecimiento de los peces. Al evaluar las harinas por separado el 18% de sustitución de harina de gluten fue mejor que la sustitución de 8% harina de soya. Sin embargo, el crecimiento de los peces se vio afectado en comparación con los peces alimentados con la dieta control que contenía solo harina de pescado.

En experimentos realizados con juveniles de cobia *Rachycentron canadum* se obtuvieron resultados óptimos de crecimiento al lograr sustituir un 75% de harina de pescado, utilizando harina de gusano y pro bióticos en la composición de las dietas. Indicando que es crucial la elección de ingredientes para incrementar la inclusión de proteínas vegetales en la formulación de dietas para la acuicultura (Salze *et al.*, 2010).

2.2. Estudios de Sustitución de Harina de Pescado por Proteína de Concentrado de Soya en peces marinos

La mayoría de los trabajos en los que se trata de sustituir la harina de pescado por fuentes de proteína de vegetal se han enfocado en peces de agua dulce o anádromos entre los que se encuentran las tilapias y los salmónidos, los cuales han desarrollado una buena aceptación de fuentes de proteína de origen vegetal (Borgeson *et al.*, 1998; Storebakken *et al.*, 1998; Mambrini *et al.*, 1999; Abdelghani 2003).

Los trabajos en donde se utiliza el concentrado de proteína de soya para la sustitución de harina de pescado en dietas para peces marinos son pocos y se han venido intensificando en la última década, debido a la necesidad de dejar de depender de la harina de pescado como fuente principal de proteína en dietas para peces carnívoros.

Berge *et al.*, (1999) estudiaron, concentrado de proteína de soya para sustituir la harina de pescado en el lenguado del atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*), logrando sustituir un 45% de la harina de pescado cuando se usan aminoácidos esenciales y adición de atractantes en la dieta para mejorar la ingesta y la palatabilidad del alimento. Similar a lo anterior, pero con un resultado de sustitución menor es con el rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.) en organismos de 13 g. con un requerimiento de proteína del 50%, en este trabajo los niveles de reemplazo de harina de pescado por concentrado de soya no fue significativamente diferente al 25% de sustitución (Day y Plascencia, 2000). Así mismo con la dorada *S. aurata*, se ha demostrado la factibilidad de agregar hasta el 30% de concentrado de proteína de soya a la de harina de pescado en organismos de 12.5 g durante 9 semanas, además se observó que las tasas de crecimiento tienden a disminuir con forme se incrementa los niveles de CPS en las dietas (Kissil *et al.*, 2000). Mientras que Takagi *et al.*, (2008), demostraron que el jurel cola amarilla (*Seriola quinqueradiata*) tolera inclusiones de concentrado de proteína de soya de hasta un 58% en juveniles de 470 g, pero

las dietas con esta fuente de proteína causa menores tasas de crecimiento específico y conversión alimenticia comparadas con dietas hechas a base de harina de pescado.

En la cobia (*R. canadum*) alimentado con harina de soya, se observó que los resultados en crecimiento se vieron afectados considerablemente al 50% de sustitución, mientras que la tasa de conversión alimenticia incrementó en los peces en reemplazos del 50 y 60% (1.48 y 1.65 respectivamente) y para las dietas de 0, 10, 20, 30 y 40% de sustitución, se obtiene una conversión alimenticia de 1.28 a 1.29. Por los resultados anteriores se recomienda la inclusión de aminoácidos esenciales deficientes en la soya como la metionina y la lisina (Chou *et al.*, 2004).

En México, uno de los peces marinos de importancia comercial es el botete diana (*S. annulatus*), donde su alimentación se ha substituido harina de pescado por CPS, como esta especie es carnívora y tiene un requerimiento de proteína del 55%. En el trabajo con esta especie se probaron 7 dietas para sustituir la harina de pescado por CPS (0, 10, 20, 30, 40, 50 y 100), no se encontraron diferencias significativas al 50% de sustitución. Sin embargo al someter los datos a una regresión polinomial de segundo orden, la sustitución óptima fue de 10.8 % de inclusión de CPS. Al igual que en los trabajos anteriores, en el estudio el crecimiento, la ingesta del alimento y la tasa de conversión alimenticia se vieron afectadas con forme se incrementaba la inclusión de CPS en las dietas (Villa-López., 2009). También se demostró que se pueden utilizar de manera combinada las fuentes de proteína y de lípidos de origen vegetal, como el CPS y el aceite de canola, en alimentos prácticos para la engorda del botete diana sin afectar el crecimiento de los peces (Villa-López y García-Ortega, 2008).

2.3. Estudios sobre Aminoácidos en Alimentos para Acuicultura

Los aminoácidos son las unidades estructurales o bloques de construcción de las proteínas. La fórmula general de los 20 aminoácidos con excepción de la prolina se encuentra constituida por un átomo de carbono α covalentemente unido a un átomo de hidrogeno, un grupo amino, un grupo carboxílico y estos difieren entre sí por la estructura de su cadena lateral, llamadas grupo R, Figura 1.

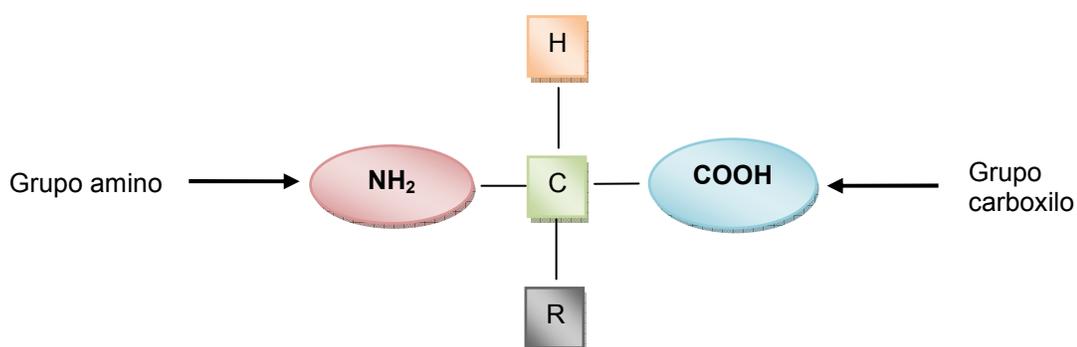


Figura 1. Fórmula química de la metionina

Se han propuesto diferentes métodos para la clasificación de los aminoácidos sobre todo para la diferenciación de su grupo R o cadena lateral, entre estas clasificaciones se encuentran: los grupos R polares, no polares, polares sin carga, polares cargados positivamente y dentro de estos mismos están clasificados en distintas formas y tamaños. Sin embargo, con respecto a las necesidades nutricionales los aminoácidos se clasifican en esenciales y no esenciales (Lehninger, 1994).

Los aminoácidos esenciales son aquellos que no pueden sintetizarse en el organismo, por lo cual estos deben ser proporcionados por la dieta. En cambio los aminoácidos no esenciales pueden ser sintetizados adecuadamente por el

organismo. De los 20 ácidos presentes en las proteínas el ser humano solo puede sintetizar 12, pero, los 20 aminoácidos son biológicamente esenciales para mantener una salud adecuada, estos se muestran en la Tabla 1 (Harper, 2003).

Tabla 1. Aminoácidos esenciales y no esenciales en humanos (Harper, 2003).

Esenciales	No esenciales
Valina (Val)	Alanina (Ala)
Leucina (Leu)	Prolina (Pro)
Treonina (Thr)	Glicina (Gly)
Lisina (Lys)	Serina (Ser)
Triptófano (Trp)	Cisteína (Cys)
Histidina (His)	Asparagina (Asn)
Fenilalanina (Phe)	Glutamina (Gln)
Isoleucina (Ile)	Tirosina (Tyr)
Arginina (Arg)	Ácido aspártico (Asp)
Metionina (Met)	Ácido glutámico (Glu)

Para los peces los aminoácidos esenciales difieren un poco (Tabla 2) en comparación con los seres humanos. Ya que, además se encuentran los condicionales los cuales deben ser administrados a través de la dieta bajo condiciones donde las tasas de utilización son mayores que su capacidad para ser sintetizados en el metabolismo. Entre estos aminoácidos se encuentra la cisteína que juega un papel importante en la síntesis de metionina, otro es la taurina que en los peces se ha demostrado que favorece la palatabilidad en las dietas y mejora en respuesta neuronales y de oxidación del pez (Li *et al.*, 2009).

Tabla 2. Aminoácidos en peces y otros animales acuáticos (Li *et al.*, 2009).

Esenciales	No esenciales	Condicionales
Arginina	Alanina	Cisteina
Histidina	Asparagina	Glutamina
Isoleucina	Aspartato	Hidroxiprolina
Leucina	Glutamato	Prolina
Lisina	Glicina	Taurina
Metionina	Serina	
Fenilalanina	Tirosina	
Treonina		
Triptofano		
Valina		

En estudios recientes con aminoácidos en animales acuáticos y terrestres indican que los aminoácidos regulan las rutas metabólicas como la síntesis de proteínas, regulación del apetito, reproducción y respuestas inmunes y que esto varía en distintas especies de animales acuáticos por ejemplo la alanina, glutamina y serina son los encargados de la regulación del apetito en varios peces; la arginina y la metionina inducen la maduración intestinal de lubina de mar (Perez *et al.*, 1997). También se ha demostrado que la lisina y la metionina ayudan en la regulación y transporte de lípidos en la membrana mitocondrial y otros aminoácidos como la fenilalanina y la tirosina en el lenguado japonés y pez gato tienen funciones de modulación del estrés, influencia en la metamorfosis y pigmentación (Li *et al.*, 2009), esta información se encuentra representada en la Figura 2 y Tabla 3.

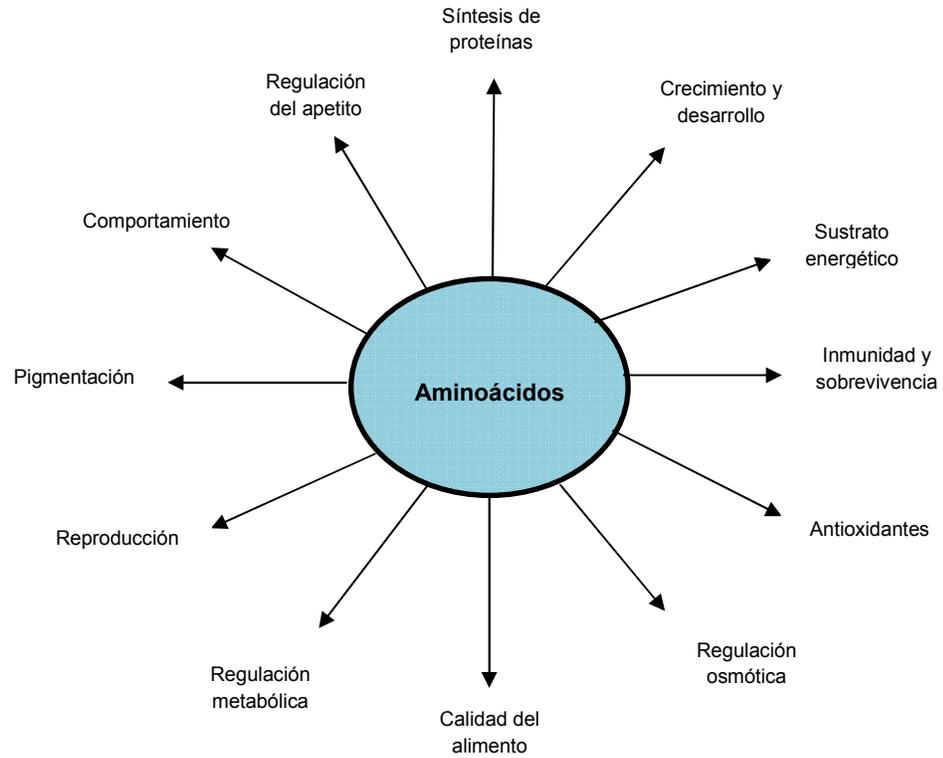


Figura 2. Roles de los aminoácidos en el crecimiento, desarrollo y salud en los peces

Tabla 3. Funciones de los aminoácidos en el metabolismo de animales acuáticos (Li *et al.*, 2009).

Aminoácidos	Función	Peces	Referencia
Alanina, glutamina, serina	Apetito	Varios peces	Shamushaki <i>et al.</i> , (2007)
Arginina	Elimina microorganismos invasores, facilita el desarrollo y la función neurológica, regula flujo sanguíneo, osmolaridad branquial.	Bagre de canal, tilapia.	Buentello y Gatlin (1999); Bordieri <i>et al.</i> , (2005); Hyndman <i>et al.</i> , (2006)
Arginina y metionina (espermina)	Induce la maduración intestinal de larvas	Lubina de mar	Pérez <i>et al.</i> , (1997)
Arginina, metionina glicina (creatina)	Alto almacenamiento de energía, antioxidante	Salvelino Artico	Bystriansky <i>et al.</i> , (2007)
Ácido glutámico	Antioxidante, promueve metamorfosis, regula la ingesta del alimento	Trucha arcoíris, Lenguado japonés, Abalon	Anderson <i>et al.</i> , (2002); Morse <i>et al.</i> , (1979); Kim <i>et al.</i> , (2003)
Glutamina	Incrementa el crecimiento, eficiencia en el alimento y desarrollo intestinal	Carpa	Lin y Zhou (2006)
Glutamina, glicina y Ácido aspártico	Almacenamiento de información genética y expresión, biosíntesis, inmunidad y reproducción	Varios peces	Li y Gatlin (2006)
Glicina	Regulación osmótica	Ostión	Takeuchi (2007)
Histidina	Protege contra el cambio de pH	Salmón	Mommsen <i>et al.</i> , (1980)
Leucina	Modula la inmunidad:	Varios peces	Li y Gatlin (2007)
Lisina y metionina (carnitina)	Transporte de lípidos en la membrana mitocondrial	Varios peces	Harpaz (2005)
Metionina (colina)	Estructura de la membrana, neurotransmisor, síntesis de betaina	Varios peces	Mai <i>et al.</i> , (2006b)
Prolina	Promueve el crecimiento	Pez gato	Garg (2007)
Fenilalanina y tirosina	Influencia en metamorfosis y pigmentación, promueve el crecimiento, modula la respuesta al estrés	Solea, Pez gato, Lenguado japonés, trucha arcoíris, Lenguado	Pinto <i>et al.</i> , (2008); Garg (2007); Yoo <i>et al.</i> , (2000); Noonanuntanasarn <i>et al.</i> , (2007), Damasceno – Oliveira <i>et al.</i> , (2007)
Triptófano	Modula la liberación del cortisol, comportamiento, alimentación, mejora el desarrollo testicular	Trucha arcoíris, Masu salmón	Lepage <i>et al.</i> , (2003); Amano <i>et al.</i> , (2004)

2.3.2. Metionina

La metionina pertenece al grupo de los aminoácidos sulfurados (Figura 3), así como la cisteína y la taurina y es un aminoácido esencial. La información genética, en el ARNm se escribe a partir de letras que corresponden a bases nitrogenadas del ARN, las cuales van agrupadas de tres en tres y a cada grupo de tres se le llama codón o triplete; la metionina está representada por el codón AUG, que se refiere a las bases nitrogenadas de Adenina, Uracilo y Guanina (AUG) (ATG en el ADN). El codón AUG es el inicio del mensaje para el ribosoma que indica la iniciación de la síntesis de una proteína, por lo que este aminoácido siempre toma la primera posición en la proteína durante la traducción.

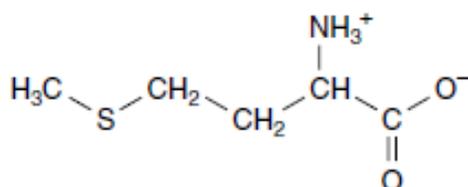


Figura 3. Fórmula química de la metionina

El ciclo de la metionina de acuerdo a Groff, (2008), se encuentra representado en la Figura 4, como primer paso el catabolismo de la metionina es la conversión de esta a S-adenosil metionina (SAM) por la enzima metionina adenosil transferasa, la cual se encuentra en gran concentración en el hígado, que es el órgano donde se realiza la degradación o catabolismo de la metionina. La SAM tiene muchas funciones, por ejemplo, estimula la síntesis de cistationina, la cual se convierte la homocisteína a cistationina. Este también inhibe la actividad reductasa de metilación del tetrahidrofolato (THF), el cual forma N5-metil tetrahidrofolato. El THF es necesario para la generación de metionina a partir de homocisteína. Así pues, SAM cuando se encuentra presente en grandes cantidades, facilita la degradación de metionina. La

descarboxilación del SAM sirve para formar S-adenosil-metil-tiol propilamina, en la síntesis intermedia de las poliaminas como son la putrescina, espermidina y esperina. Las cuales son importantes para la división celular y el crecimiento.

La remoción del grupo metilo de SAM forma el compuesto S-adenosil homocisteina (SAH), este puede ser convertido a homocisteina por la enzima S-adenosil homocisteina hidrolasa. La homocisteina puede ser convertida de vuelta a metionina en una reacción dependiente de betaina o vitamina B₁₂ (como metil cobalmina) y folato (como 5 -metil tetrahidrofolato) (Groff, 2008).

La betaina, generada en el hígado a partir de colina, provee un grupo metil el cual es transferido a homocisteina por la enzima hepática betaina homocisteina metil transferasa. Con la pérdida del grupo metil, la betaina se convierte en dimetil glicina. Así mismo la dimetil glicina puede ser re metilada para generar glicina. Por lo tanto la remetilación dependerá de la vitamina B₁₂ y el folato, ya que provee el grupo metil para la remetilación de homocisteina y formar metionina. Según Espe *et al.*, (2008), se ha calculado que en el ser humano el 85% de las reacciones de metilación y el 48 % del metabolismo de la metionina ocurre en el hígado. La homocisteina para ser metabolizado en el cuerpo, deberá de reaccionar con el aminoácido serina, formando cistationina a través de la reacción cistationina sintetaza. Es necesaria la presencia de vitamina B₆ en forma de coenzima para que ocurra esta reacción.

Más adelante para el catabolismo de la cistationina se necesita la cistationina liaza y otra vitamina B₆ para formar la cisteína. En esta reacción se genera el alfa – cetobutirato, el cual es carboxilado a propionil CoA. Al proceso de conversión de homocisteina a cisteína por las enzimas cistation sintetiasa y cistation liaza se le conoce como patrones o rutas de transulfuración. Estas reacciones ocurren en el hígado, riñón, páncreas y los intestinos.

La utilización de metionina para uso en productos alimenticios es un polvo fino, y blanco, su apariencia es cristalina. La elaboración sintética de metionina se da por medio de procesos químicos a partir del propileno, metiltiol, metano y amoníaco. El producto sólido comercial tiene una riqueza superior al 99 % y se encuentra disponible en la forma DL–metionina, L–metionina y D–metionina. La metionina en su forma L, es el isómero natural el cual es absorbido de manera eficiente por los animales. La D–metionina es menos eficiente que la L–metionina y debe ser convertido en un α –ceto análogo por la D–metionina oxidasa antes de ser transaminado a L–metionina (Groff, 2008). De manera comercial se encuentra en la forma DL–metionina la cual es una mezcla de ambos isómeros y es metabolizado de manera eficiente por los vertebrados (Li *et al.*, 2009; Espe *et al* 2008).

La importancia de la metionina radica en que juega un papel en la síntesis de proteínas, lo cual se refleja el crecimiento de los organismo, sin embargo su función principal es la utilización del derivado de la metionina, S–adenosil metionina (SAM) como un donador de grupos metilos ($-\text{CH}_3$), es decir la adición de estos grupos metilos a bases de citosinas del ADN situadas previa y continuamente a una guanina, también como donador de metilos a sustratos tales como nucleídos, proteínas y fosfolípidos, colina, carnitina y espirmina. El SAM también participa en la reparación celular, biosíntesis de diversos neurotransmisores y hormonas que afectan el estado de ánimo, como la dopamina y la serotonina en el humano (Groff *et al.*, 2004).

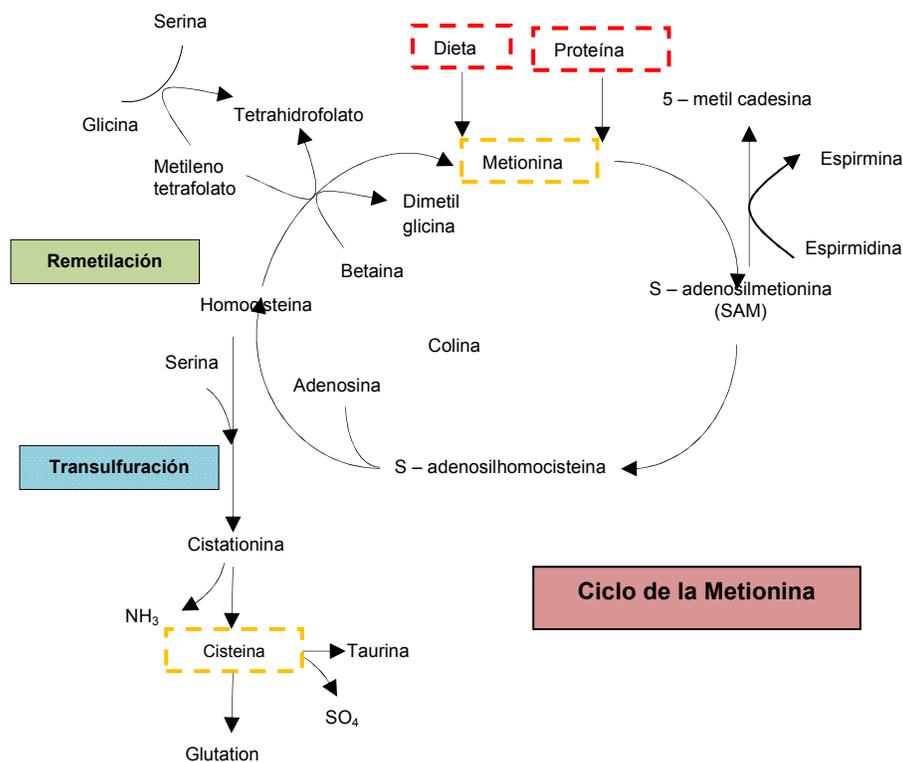


Figura 4. Ciclo de la metionina (Groff *et al.*, 2004)

En otras reacciones que actúa la metionina se encuentra la síntesis de esta misma a cisteína y taurina aminoácidos no esenciales, así como creatina también promotores de crecimiento. Se tiene estimado que la cisteína puede tener un efecto de ahorro del 40 al 60% de metionina en la dieta, por lo que los requerimientos se pueden conocer ya sea por medio de la metionina por si sola o una mezcla entre metionina y cistina (Goff *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).

Para diversas especies de peces se ha reportado que los requerimientos de metionina se encuentran en un rango de 1.8 a 4% del contenido de proteína en la dieta (Mai *et al.*, 2006), y que esto puede variar de acuerdo a la talla, edad, especie, ingredientes en la dieta, tipo de alimentación y sistema de cultivo.

Deficiencias de metionina en dietas para acuicultura reduce el crecimiento y en la trucha arcoíris se ha demostrado que provoca cataratas bilaterales. Además en diversos estudios en donde se reemplaza la proteína de pescado por proteínas vegetales, principalmente la soya la reducción de crecimiento ha sido notoria y ha mejorado al añadir metionina obteniendo así un adecuado balance de amino ácidos en la dieta (Ketola 1984; Mambrini *et al.*, 1999; Lou Z. *et al.*, 2005; Mai *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2007).

Por otra parte también se menciona que el exceso de metionina puede provocar la disminución en el crecimiento de los peces o mantener un crecimiento constante, posiblemente por un desbalance en la composición de aminoácidos (Yan *et al.*, 2007).

Mei *et al.*, (2006) menciona que la disminución de crecimiento en el pez por exceso de metionina lleva a un acumulación y oxidación de metionina a cetonas, metabolitos tóxicos que pueden afectar la utilización y absorción de otros amino ácidos afectando el crecimiento.

2.4. Estudios sobre Requerimiento de Metionina en Peces

La metionina y la lisina son aminoácidos esenciales que se encuentran en menor cantidad en algunas proteínas de origen vegetal como la canola y la soya, por lo que estos deben ser añadidos a las dietas para poder obtener un perfil de aminoácidos completo y balanceado que mejoren el rendimiento y crecimiento de los organismos acuáticos. En años recientes gracias a los trabajos que se han desarrollado en donde se reemplaza total o parcialmente la harina de pescado por fuentes de proteínas vegetal, se han formulado dietas experimentales donde el objetivo es suplementar o determinar el requerimiento de aminoácidos para un buen desarrollo de los peces.

Uno de los primeros trabajos fue el realizado con la carpa común (*Cyprinus carpio*), para el cual se utilizó soya, gelatina y harina de chicharos. El contenido de metionina en la dieta basal fue de 0.49 y 0.42% base seca (bs) de cisteína, se formularon 5 dietas para la determinar el requerimiento de metionina en un rango de 0.61 a 1.34% (bs). Los resultados obtenidos en este experimento indican que el requerimiento de metionina para aumentar la tasa de crecimiento es al 1.08 % bs, sin embargo al realizar el análisis de punto de quiebre se obtuvo un requerimiento máximo de 0.85% bs (Schwartz *et al.*, 1998). Resultados similares al anterior son los presentados con el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) donde se usaron peces de 14g y el requerimiento de metionina fue de 1.15% bs (Cai y Burtle, 1996).

En un experimento probaron la sustitución parcial y total de harina de pescado por concentrado de proteína de soya (25, 50, 75 y 100%), examinaron dos niveles de metionina en las dietas para trucha arcoíris *Onchrhynchus mykiss* con el 100% de sustitución de harina de pescado, y se encontró que a pesar de que su crecimiento se vio afectado por la falta de harina de pescado, la inclusión de metionina (0.4% bs) incrementó un 13% el crecimiento en comparación con la dieta del 100% de sustitución, que no contenía metionina. Además se observaron que la deficiencia en el crecimiento de los peces se puede deber a la falta de palatabilidad en la dietas, lo que provocó que los peces disminuyeran el consumo del alimento (Mambrini *et al.*, 1999).

El experimento realizado por Alam *et al.*, (2000) utilizaron la inclusión de metionina en el lenguado japonés ya que es una especie de alto valor comercial en la industria japonesa. Para la formulación usó una pre mezcla de aminoácidos, caseína y soya que conformaron un 50% de proteína cruda, la dieta basal tenía un contenido de metionina del 1.42% y los niveles de inclusión de metionina fueron de 0.53–2.03%, en incrementos del 0.30%. Para este experimento los mejores resultados de crecimiento se presentaron en la dieta con 1.76% de inclusión. Sin embargo, el análisis de punto de quiebre indicó un requerimiento de metionina de 1.49%, para el lenguado japonés en organismos

con un peso inicial de 2.8 g. Finalmente, indicaron que la determinación del requerimiento de metionina es necesaria para el desarrollo de dietas con bajos niveles de proteínas marinas en su formulación.

El mero de pintas naranjas *Epinephelus coioides* es un pez de importancia comercial al sur de Asia. En un trabajo con esta especie se utilizaron diferentes niveles de inclusión de metionina (0.25 a 1.25 g/100) en dietas con un 25% de harina de pescado y 12% de concentrado de proteína de soya, de igual manera que en los trabajos anteriores el crecimiento se vió mejorado conforme lo hace la inclusión de metionina en las dietas. Por lo cual, los resultados de tasa de conversión alimenticia también son favorecidos. Sin embargo no se ve un efecto de la metionina en la ingesta del alimento (Luo, *et al.*, 2005).

Según Mai *et al.*, (2006), estudian el comportamiento de juveniles de curvina japonesa *Pseudosciaena crocea* alimentados con dietas de base proteica con la harina de pescado y harina de soya (30 y 29% respectivamente), donde se determina el requerimiento de metionina en rangos que van de 0.25 al 1.25 g/100; la tendencia de crecimiento aumenta con forme lo hace la cantidad de metionina teniendo un punto máximo al 0.75 g/100 (1.44% bs), y esto se ve reflejado en la ganancia en peso y la tasa de conversión alimenticia.

De igual manera el requerimiento de metionina para el pez roca *Sebastes schlegeli* con un peso inicial de 43 g, en donde la inclusión de metionina fue de 0.58 a 3.08 g/100 en incrementos de 0.5%. La tasa de crecimiento aumenta conforme lo hace la inclusión de metionina, alcanzando el crecimiento más alto al 1.58% de adición y este tiende a disminuir a partir del 2.08 % base seca (Yan *et al.*, 2007).

Se han realizado diversos trabajos en los que se incluye metionina y lisina en dietas a base de proteínas de origen vegetal y animal; en estos se han obtenido mejoras en el crecimiento de peces, como en el realizado por Hu *et al.*, (2008) con la perca (*Perca fluviatilis*). En este trabajo adicionan 0.52 y 0.18 g/100 de lisina y metionina respectivamente, entre los resultados que se tienen es la

mejora en el crecimiento en las dietas que tenían presente estos aminoácidos en comparación a la dieta basal que carecía de estos.

Un trabajo similar al anterior es el realizado por Abimorad *et al.*, (2009) con el pacu (*Piaractus mesopotámicos*) un pez comercial de agua dulce, realizaron un experimento, donde la inclusión de 1.09 y 0.14 g/100 de lisina y metionina respectivamente, obtuvo mejores resultados en crecimiento y retención proteica que la dieta basal a la cual no se le adicionó lisina ni metionina.

2.5. Peces de la Familia Lutjanidae

La familia Lutjanidae la componen 17 géneros y 103 especies de peces marinos a lo que comúnmente se les conoce como pargos. Son especies costeras demersales por lo que a los juveniles se les puede encontrar en bocas de ríos, estuarios y arrecifes; mientras que a los adultos se les puede encontrar en aguas profundas comúnmente formando cardúmenes. Su distribución es amplia ya que va desde el Golfo de California en México hasta Perú, la pesca se realiza durante todo el año, pero suele ser mas abundante durante los meses de mayo, agosto y diciembre (Allen y Robertson, 1994). La clasificación taxonómica según Allen, (1985) se presenta a continuación:

Reino	Animalia
Phylum	Vertebrata
Clase	Osteichthyes
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Familia	Lutjanidae
Genero	<i>Lutjanus</i>
Especie	<i>guttatus</i>

2.5.1. Morfología de *Lutjanus guttatus*

El pez *Lutjanus guttatus* presenta un cuerpo alargado y comprimido cubierto de escamas ctenoides, los dientes son vomerianos, es decir en forma triangular; lengua con un parche de diente granular; agallas con branquiespinas. Formados con una aleta dorsal que cuenta con 10 espinas y 12 radios; la aleta anal tiene 3 espinas y 8 radios; aleta pectoral con 17 radios y su aleta caudal es truncada. En cuanto al color, presenta puntos azules e irregulares al inicio del dorso por la aleta dorsal, para posteriormente desarrollar un color rojo intenso en toda la parte del dorso hasta irse degradando a un color blanco y amarillo en la parte del estómago y aleta caudal. Una característica de esta especie es que presenta una mancha en forma de lunar color negro en la parte posterior a la espina dorsal (Figura 5). Los nombres comunes de esta especie en México son: pargo lunarejo, pargo flamenco, huachinango y pargo de la mancha (Allen *et al.*, 1985).



Figura 5. Pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) organismo cultivado en cautiverio y resultado del primer experimento del presente trabajo. Peso: 60 g. Longitud: 15 cm.

2.5.2. Hábitos Alimenticios

Los hábitos alimenticios del organismo en su vida silvestre son variados pero de acuerdo a Rojas *et al.*, (2004) el pargo lunarejo es un organismo bentónico depredador oportunista, se alimenta principalmente de moluscos, crustáceos y peces. Siendo en este estudio el grupo dominante el de los crustáceos entre los que se encontraron, camarones, cangrejos y jaibas.

2.6. Nutrición y Alimentación del Pargo lunarejo en Acuicultura

Los hábitos alimenticios y requerimientos nutricionales del pargo lunarejo se han dado a conocer en los últimos años. Para la etapa larval el uso de alimento vivo como microalgas, rotíferos, copépodos y *Artemia* enriquecida se han utilizado, así como el uso de microdietas después del destete (García-Ortega *et al.*, 2005).

Por otra parte se han realizado diversos trabajos para determinar los requerimientos nutricionales del pargo lunarejo en su etapa juvenil. Hernández *et al.*, (2007) estudiaron con juveniles de 2.2 g en donde se formularon dietas para conocer los requerimientos de proteína y lípidos. Se desarrollaron tres niveles de proteína (40, 45 y 50%) y lípidos (9, 12 y 15%). Los peces que presentaron un mayor crecimiento, tasa de eficiencia proteica y tasa de eficiencia en el alimento fueron los que consumieron el alimento formulado al 45% de proteína y 9% de lípidos. En un segundo experimento se formularon las dietas con mejor calidad proteica, 45% de proteína y 9% de lípidos, utilizando calamar y gónada de atún, donde los formulados con calamar favorecieron el crecimiento.

Para peces en la fase de engorda con un peso inicial de 140 g, también se han determinado los requerimientos de proteína y lípidos, para este experimento las fuentes de proteína fueron de pescado y caseína, para los lípidos se utilizó aceite de pescado. En este experimento se determinó que el requerimiento de proteínas y lípidos fue de 40% y 11% respectivamente (García-Ortega *et al.*, 2004; Villa-López, 2009).

Recientemente se determinó el requerimiento de vitamina C en forma de L-ascorbil-2-polifosfato (LA2PP), para juveniles de pargo flamenco con un peso inicial de 8 g, donde el requerimiento de vitamina C es de 47 mg/kg, entre otros resultados que arrojó este experimento fue que la inclusión de vitamina C en las dietas no influyó en el incremento o disminución del crecimiento (Osuna-Durán, 2009). Así mismo debido a que los peces cultivados bajo condiciones controladas, han presentado diferencias en la coloración de la piel, en comparación con los peces silvestres, se realizó un experimento para determinar el requerimiento de astaxantina sintética en forma libre (Carophill pink 8%), en organismos de 74 g. Obteniendo que el requerimiento de astaxantina para una pigmentación adecuada del pargo lunarejo es de 0.75 g/kg (Rodríguez -Moreno, 2009).

3. HIPÓTESIS

La sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya (CPS) no disminuye la utilización del alimento ni el crecimiento de juveniles de *Lutjanus guttatus* hasta niveles del 30% de CPS, asimismo la inclusión de entre 1 y 2% de metionina en dietas conteniendo un 50% de CPS permite un crecimiento similar a los peces alimentados con una dieta del 100% de harina de pescado.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- Evaluar los efectos de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya en el crecimiento y utilización del alimento en juveniles de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*. Así como determinar el nivel de inclusión óptimo de DL-metionina en dietas con harina de pescado/concentrado de proteína de soya para lograr el crecimiento máximo en el pargo lunarejo.

4.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar los efectos de sustitución de harina de pescado (0, 10, 20, 30, 40, 50 y 100%) por concentrado de proteína de soya en la utilización de alimento y crecimiento pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*.
2. Estudiar la respuesta de la inclusión de metionina (0.5, 1.0, 1.5, 2 y 2.5%) en dietas formuladas con 50% concentrado de proteína de soya y 50% de harina de pescado como principales fuentes de proteína, sobre el crecimiento y perfil de aminoácidos en el músculo de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*.
3. Realizar un análisis económico comparativo de las dietas, para analizar cómo se comporta la inclusión de CPS y DL-metionina cuando se incluyen las variables de costo del alimento, tasa de conversión alimenticia y peso ganado.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo consistió en dos experimentos, en el primero se evaluó la sustitución total y parcial de concentrado de proteína de soya. Y en el segundo se determinó el requerimiento óptimo de metionina en dietas para pargo lunarejo *L. guttatus*.

5.1. Formulación de Dietas Experimentales

5.1.1. Experimento 1

Todas las dietas en ambos experimentos se formularon para tener un contenido de 45% proteína y 12% lípidos. Para este experimentado se utilizó concentrado de proteína de soya extruida marca Profine™ (The Solae Co., EUA 2009). Se formularon niveles de reemplazo de 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 100% de harina de pescado por concentrado de proteína de soya. Como fuentes de proteína se utilizó harina de pescado, concentrado de proteína de soya extruido, acemite de trigo y calamar fresco. Como fuente de lípidos se usó aceite de pescado (Tablas 4 y 5).

Tabla 4. Formulación de dietas experimentales para sustituir harina de pescado por concentrado de proteína de soya.

Ingredientes	Dietas experimentales (g/kg)						
	Niveles de inclusión de CPS (%)						
	0	10	20	30	40	50	100
Harina de pescado ¹	498.73	448.89	399.05	349.22	299.37	249.54	0
Harina de CPS* ²	0	53.89	107.78	161.67	215.56	269.45	539.27
Calamar fresco ³	118.25	118.25	118.25	118.25	118.25	118.25	118.25
Acemite de trigo ⁴	90	90	90	90	90	90	90
Aceite de pescado ⁵	52.26	57.94	63.63	69.31	74.99	80.67	109.11
Dextrina ⁵	200	190.2	180.54	170.8	161.08	151.34	102.68
Alginato ⁵	20	20	20	20	20	20	20
Astaxantina ⁶	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Premezcla de vitaminas y minerales ⁶	20	20	20	20	20	20	20
Costo del alimento (\$/Kg)	67.2	68.8	70.3	71.7	73.2	74.1	82
Formulación							
Proteína (%)	45	45	45	45	45	45	45
Lípidos (%)	12	12	12	12	12	12	12
Energía (kJ / g)	22.0	22.2	22.0	22.4	22.0	22.1	23.0

*Concentrado de proteína de soya

¹Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V.

² Calamar Chico

³Profine E. Solae Company, EUA

⁴Molinos Munsa S.A. de C.V.

⁵Drogueria Cosmopolita S.A. de C.V.

⁶Rovimix. DMS Nutritional Products México S.A. de C.V.

Tabla 5. Composición proximal (% peso seco) de las materias primas utilizadas para la formulación de las dietas en el experimento 1, de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.

Materia prima	Proteína (%)	Lípidos (%)	Humedad (%)	Ceniza (%)
Harina de pescado	67.3 ± 0.1	11.45 ± 0.04	6.55 ± 0.1	19.07 ± 0.2
Harina de CPS*	62.24 ± 0.02	0.06 ± 0.01	7.06 ± 0.03	6.11 ± 0.04
Calamar fresco (Chico)	82.08 ± 0.1	4.98 ± 0.02	82.43 ± 0.1	7.05 ± 0.02
Acemite de Trigo	19.22 ± 0.01	5.56 ± 0.1	10.53	5.04 ± 0.1

(*Harina de concentrado de soya extruida)

5.1.2. Experimento 2

Para el segundo experimento se utilizó DL-metionina (SIGMA) con una actividad del 99.9%. Se formularon cinco dietas con varios niveles de inclusión (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2, 2.5%), y una dieta control con harina de pescado, manto de calamar fresco y acemite de trigo como fuentes de proteína. La formulación de las dietas en donde se encuentran los niveles de inclusión de metionina de 0 a 2.5% utilizaron la formulación de la dieta del experimento 1 (50% HP-50% CPS), disminuyendo la dextrina conforme se incluía la cantidad de metionina (Tabla 6).

Tabla 6. Formulación de dietas experimentales para incluir DL - Metionina en dietas de pargo lunarejo.

Ingredientes	Dietas experimentales (g/kg)						
	Niveles de inclusión de DL - Metionina (%)						
	0	0	0.5	1	1.5	2	2.5
Harina de pescado ¹	498.7	249.5	249.5	249.5	249.5	249.5	249.5
Harina de CPS* ²	0	269.4	269.4	269.4	269.4	269.4	269.4
Calamar fresco ³	118.2	118.2	118.2	118.2	118.2	118.2	118.2
Acemite de trigo ^{3,4}	90	90	90	90	90	90	90
Aceite de pescado ⁵	80.6	80.6	80.6	80.6	80.6	80.6	80.6
Dextrina ⁵	200	151.34	146	141	136	131	126
Alginato ⁵	20	20	20	20	20	20	20
Metionina ⁶	0	0	5	10	15	20	25
Astaxantina ⁷	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Premezcla de vitaminas y minerales ⁷	20	20	20	20	20	20	20
Costo del alimento (\$/kg)	55.2	60.21	65.6	71.1	76.6	82.1	87.6
Formulación							
Proteína (%)	45	45	45	45	45	45	45
Lípidos (%)	12	12	12	12	12	12	12
Energía (kj / g)	22.4	22.1	22.3	22.6	23.3	24.3	23.9

*Concentrado de proteína de soya

¹Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V.

²Profine E. Solae Company, EUA

³Manto de Calamar

⁴Molinos Munsa S.A. de C.V.

⁵Droguería Cosmopolita S.A. de C.V.

⁶DL- Metionina, ≥ 99% TLC M9500 – 1Kg. Sigma - Aldrich, Inc U.S.A.

⁷Rovimix. DMS Nutritional Products México S.A. de C.V.

5.2. Elaboración de Dietas Experimentales

Las harinas de pescado, concentrado de proteína de soya y acemite de trigo se molieron finamente en un molino de martillos marca Micron K – 20 y fueron tamizadas con una malla de 0.46 micras para homogenizar el tamaño de partículas y obtener un polvo fino uniforme para cada una de las harinas. Las harinas fueron pesadas en una balanza marca OHAUS 5000 series de acuerdo a las formulaciones, después los ingredientes se mezclaron homogéneamente en una batidora marca Hobart A-200T con una capacidad para 5 kg.

Los ingredientes fueron mezclados de la siguiente manera; primero se agregaron los macronutrientes i.e. harina de pescado, concentrado de proteína de soya, acemite de trigo y dextrina. Posteriormente se mezclaron en una batidora marca Kitchen Aid (MK456PWH) con capacidad de 1 kg los micronutrientes i.e. la pre mezcla de vitaminas y minerales, alginato de sodio, metionina y axtasantina para después agregarlos a la mezcla de macro nutrientes. Después de ello se añadió el aceite de pescado y al final el calamar fresco previamente molido.

La mezcla se pasó por un molino para carne marca Torrey M -22R2, para dar la forma de pellet al alimento. Una vez peletizado el alimento se colocó en charolas para ponerlas en un secador de aire a 36°C durante 16 horas.

Una vez seco el alimento se cortó manualmente para obtener pellets de aproximadamente 33 mm de longitud, se guardó en bolsas de plástico y se almacenó en un refrigerador a 8°C hasta su posterior uso. El anterior procedimiento fue llevado a cabo para ambos experimentos (Figura 6).



Figura 6. Elaboración de dietas experimentales: a) Ingredientes previamente pesados, listos para utilizarse, b) Homogenización de ingredientes, c) Peletizado de la mezcla homogénea, d) Alimento en desecador, e) alimento secado y peletizado, f) Almacenamiento en refrigeración.

5.3. Análisis Proximal de Dietas y Peces

El análisis proximal se realizó tanto a las dietas experimentales y a los peces de cuerpo entero de peso inicial y final del experimento. Se determinó en el laboratorio de bromatología para determinar el contenido de proteína, lípidos, cenizas y humedad.

El análisis de proteína cruda se realizó por el método de combustión de Dumas con el equipo Leco FP -528 (Método 990.03; AOAC, 1984). El contenido de lípidos crudos por medio de la extracción con éter de petróleo utilizando el método micro Soxhlet (Método 963.22; AOAC, 1998).

La determinación de humedad se hizo gravimétricamente; las muestras se mantuvieron en una estufa a 105°C por un periodo de 12 horas (Método 14.003 AOAC, 1984). La ceniza se calculó calcinando las muestras en una mufla a 550 °C de igual manera por un periodo de 12 horas (Método 14.006 AOAC, 1984).

5.4. Análisis de Aminoácidos

El perfil de aminoácidos se determinó por medio de la técnica para la detección y cuantificación de aminoácidos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés). Este análisis se realizó en las siete dietas experimentales y en los filetes de peces inicial y final del experimento. Para los análisis de aminoácidos se empleó el sistema de cromatografía líquida Varian (Palo Alto, CA), modelo 9012 de alta resolución, adaptado con un detector Varian 9075 de fluorescencia, un inyector de capacidad de 10 µl de volumen, una columna PDS RPC C18 10 cm x 4.6 mm ID 3 µm, 100 Å y para cisteína se usó la columna Phenomenex Gemini 5µ C18 110A 150 x 4.6 mm ID 5µm. La identificación y cuantificación de aminoácidos en las muestras se realizaron en varios pasos.

5.4.1. Hidrólisis

Aproximadamente 3 gr de muestra se sometieron a la eliminación de humedad y grasa por los métodos establecidos por la AOAC. (Método 14.003 AOAC. 1984 y Método 920.39 AOAC. 1998.) Posteriormente se pesaron 3 mg de muestra para aquellas en las que el contenido de proteína sea menor al 40% y 1 mg de muestra para mayor al 40%. Las muestras se colocaron en tubos para hidrólisis (Pierse 29560) y se les adicionara 3 ml de HCL 6 M. Se aplicó vacío durante 3 min para posteriormente poner los tubos en un baño seco a 110°C durante 12 horas.

Para la eliminación del HCL 6M y la obtención de la muestra, se procedió a la rota evaporación de las mismas a una temperatura de 65°C (Brinkmann Büchi RE 121), mediante 3 lavados con agua destilada agregando el mismo volumen de HCL (3 ml). Posteriormente la muestra se recogió con buffer de citrato de sodio 0.2 N, pH 2.2. Las muestras se etiquetaran y se analizaron de inmediato o se almacenaron a 0°C (Figura 7).

5.4.2. Derivatización

Se tomó una alícuota de 100 µl del hidrolizado y se le añadió 40 µl de estándar interno 2.5 µmol/ml, este se aforó a 1 ml con buffer de Citrato de Sodio pH 2.2. Se procedió a tomar 250 µl del diluido y 250 µl de solución OPA en una jeringa para cromatografía. La mezcla de estas dos soluciones debió durar un tiempo exacto de 2 minutos para inmediatamente pasarse por un filtro (0.2 µm) y tomar 10 µl del derivado e inyectar al cromatografo (Figura 8).

5.4.3. Oxidación

Para la determinación de cisteína como ácido cisteíco se sometieron las muestras a una oxidación previa a la hidrólisis. La oxidación consistió en la utilización de ácido per fórmico (90%) y peróxido (30%) como agentes oxidantes. (9:1 v/v). Se preparó la solución oxidante y se mantuvo a temperatura ambiente por 1 hora, posteriormente se sometió a un baño frío a una temperatura de 4°C por 15 min, después se agregaron 1 ml de solución oxidante a los tubos de hidrólisis con 1 mg de muestra previamente pesados y se sometieron a un baño seco a una temperatura de 50°C durante 15 min. Para la eliminación de la solución oxidante se procedió a una liofilización marca Labconco Freezone 6 plus número de serie 051044488A, para finalmente proceder a hacer una hidrólisis con HCL 6N durante 12 horas a 110 °C, esto se puede observar en la Figura 9 (Moore Stanford, 1962; Wathelet Bernard 1999).

Se utilizó una fase móvil con solvente A: metanol y el solvente B: buffer de acetato de sodio (0.1 M, pH 7.2), metanol y tetrahidrofurano, los cuales se emplean como modificador orgánico (900:95:5 v/v/v), (Sigma Chemical Co.). La identificación y cuantificación de los aminoácidos se dio comparando el tiempo de retención de la muestra control con los del estándar. Para lo cual el sistema de cromatografía se conectó a un Software (Barian Star Chromatography versión 4.0) donde se reportaron las lecturas de los picos en áreas en longitudes de onda de EX = 340 nm y EM = 455 nm. La preparación de las soluciones utilizadas en la determinación de aminoácidos se encuentra en el Anexo 1.

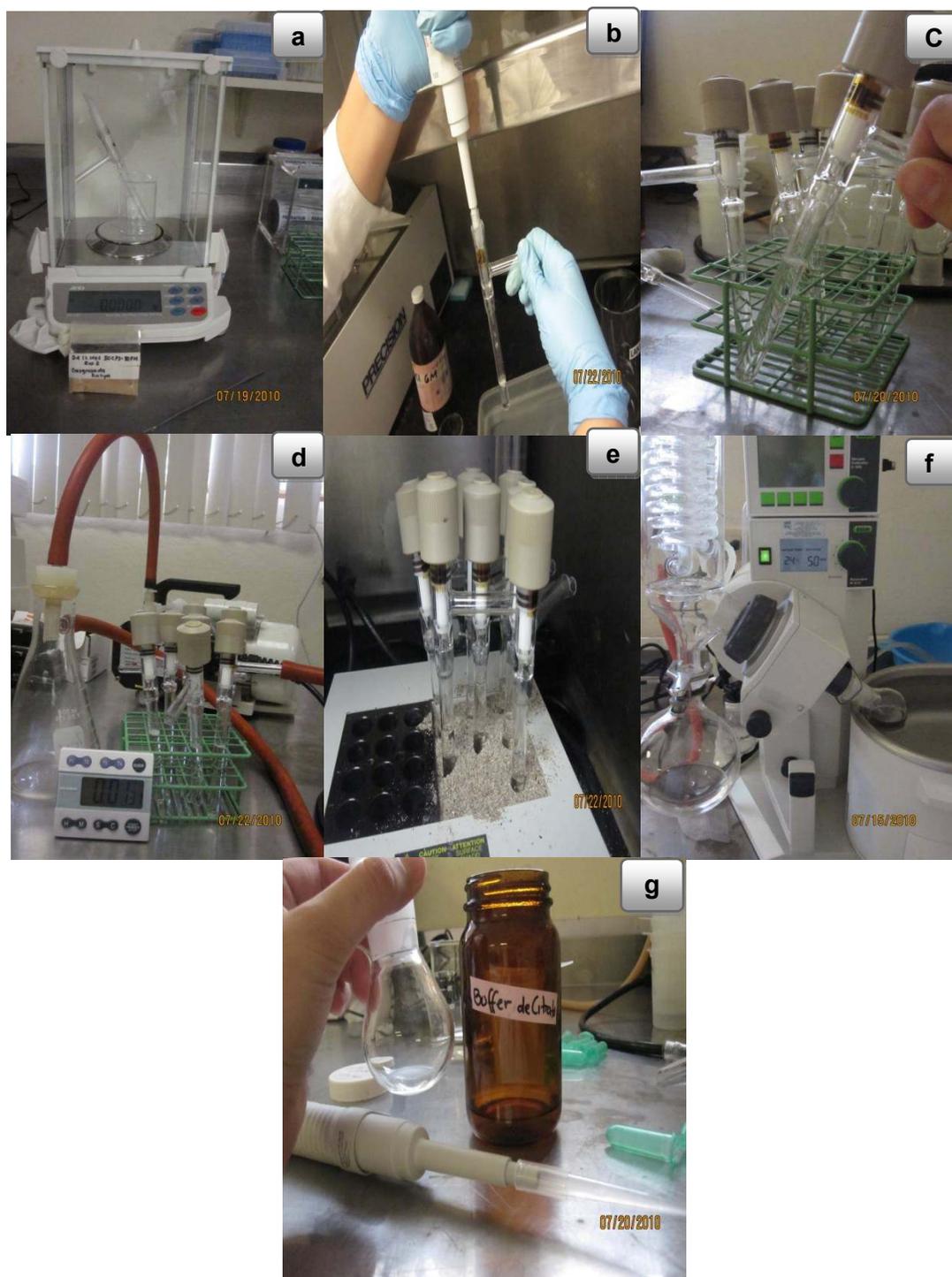


Figura 7. Hidrolisis de la muestra para determinación de perfil de aminoácidos por HPLC: a) Pesar la muestra, b) Inyección de HCL 6 M, c) Muestras con HCL, d) Vacío por 3 min, e) Baño seco por 12 hrs a 110 °C, f) Lavados de muestra en rota vapor, g) obtención de muestra con buffer de citrato de sodio.

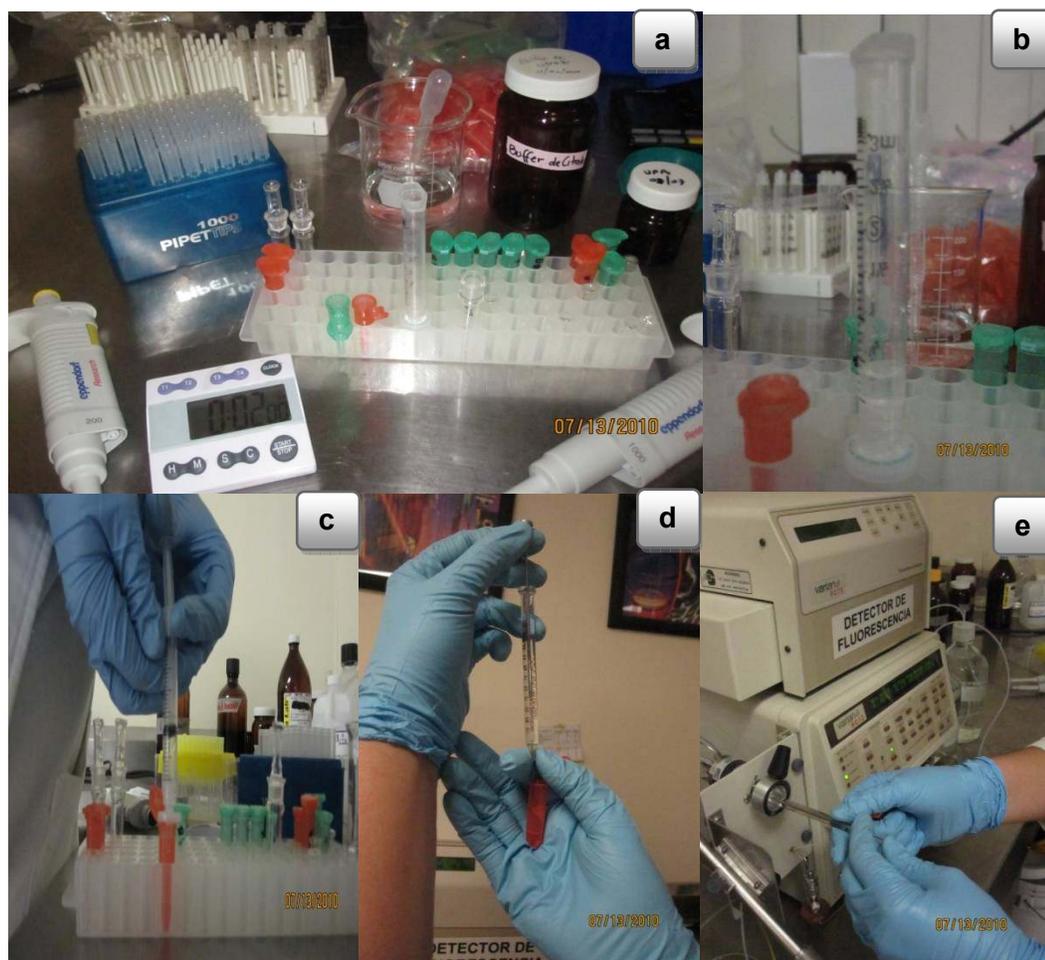


Figura 8. Inyección de la muestra al cromatografo liquido de alta resolución: a) Adición de OPA a la muestra, b) derivatización de la muestra, c) Filtración de la muestra, d) Toma de muestra derivatizada, e) Inyección de la muestra al cromatografo.



Figura 9. Oxidación de la muestra para determinación de cisteína: a) Peso de la muestra, b) Preparación de solución oxidante en baño frío, c) Adición de solución oxidante a las muestras, d) Oxidación de la muestra en baño seco, e) liofilización de las muestras oxidadas, f) Muestras liofilizadas listas para hidrolizarse.

5.5. Peces de Estudio

Los peces utilizados en los experimentos fueron producidos en la planta piloto de producción de peces marinos del CIAD Mazatlán por el Laboratorio de Reproducción y Genética. Los peces fueron llevados a la talla requerida (16 g) utilizando dietas experimentales (García-Ortega y Villa-López, 2008) por el Laboratorio de Nutrición y Larvicultura del mismo CIAD.

Se utilizaron juveniles de pargo lunarejo *L. guttatus* con un peso promedio de 16.7 ± 0.6 g para el primer experimento y de 20.5 ± 2.8 g para el segundo experimento. Se usaron 12 juveniles por cada tanque (252 peces en total en cada experimento), lo cual equivale a una densidad para el primer experimento de 0.33 g/m^3 y de 0.4 g/m^3 para el segundo experimento.

5.6. Sistema Experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en un sistema de tanques circulares de fibra de vidrio color negro con capacidad de 600 l, siendo un total de 21 tanques para ambos experimentos. Cada tanque estaba acondicionado con un dren central de dos pulgadas y el nivel del agua fue regulado con un tubo de PVC, con un flujo de agua salina de 3.3 l/min aproximadamente. En la parte superior de cada tanque se utilizaron mallas de plástico color negro sostenidas por anillos de PVC, para cubrir los tanques y evitar que los peces saltaran fuera del tanque.

En cada uno de los tanques el oxígeno fue suministrado por medio de piedras de aireación y flujo de agua constante Figura 10.



Figura 10. Sistema experimental utilizado para cada uno de los experimentos.

5.7. Régimen de Alimentación

En ambos experimentos, la alimentación se administró a saciedad aparente, es decir de manera manual y lenta hasta que los peces dejaran de comer, con dos raciones diarias (09:00 y 15:00 hrs). En cada ración se midió la cantidad de alimento consumido. Diariamente los tanques fueron sifonados para mantenerlos limpios y evitar la acumulación de materia orgánica producto de restos de alimento y heces. Cada tanque se limpió cada dos semanas aproximadamente o cuando fuera necesario. La duración de los experimentos fue de 8 semanas para el primer experimento y 12 semanas para el segundo

5.8. Parámetros Ambientales

Diariamente se registró la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto del agua (Figura 11). Para lo cual se usó un multimedidor marca YSI (modelo 85). Las condiciones para el primer experimento se mantuvo a 24.6 ± 0.7 °C, salinidad a 32.6 ± 0.4 ppm y el oxígeno en 8.2 ± 0.2 mg/l. En el experimento 2 fue de 22.9 ± 1.35 °C, con una salinidad de 31.7 ± 1.9 ppm y oxígeno en 8.2 ± 0.2 mg/l.



Figura 11. Medición de oxígeno y temperatura.

5.9. Evaluación de Crecimiento

A los peces se les realizaron biometrías al inicio del experimento y cada 4 semanas hasta el final del experimento. Los peces de cada tanque fueron pesados en grupo por medio del método de la cesta de doble fondo (Figura 12). Los peces fueron privados de la alimentación el día en el que se realizó la biometría.

Con los datos de crecimiento y consumo del alimento se determinaron los parámetros de peso ganado, tasa de crecimiento (TC%), tasa de crecimiento específico (TCE% día), tasa de conversión alimenticia (TCA), tasa de eficiencia

proteica (TEP) y utilización neta de proteína (UNP %), además se determinó la supervivencia y el costo del alimento para sacar la tasa de eficiencia económica según Martínez-Llorenz *et al.*, (2007).



Figura 12. Evaluación de crecimiento.

5.10. Índices de Crecimiento, Utilización del alimento y Económico

Peso ganado

Cuantifica los gramos de masa corporal ganados durante un periodo de tiempo.

Peso ganado (g) = Peso final – peso inicial

Tasa de crecimiento (TC %)

Es la relación que mide el crecimiento del organismo en porcentaje, desde el inicio del experimento hasta su finalización.

$$TC (\%) = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Peso inicial promedio (g)}} \times 100$$

Tasa de Crecimiento Especifica (TCE % diario)

Aumento de masa por una unidad de tiempo

$$TCE = \left(\frac{\ln(\text{peso final})}{\ln(\text{peso inicial})} \times \text{tiempo (días)} \right)$$

Tasa de Conversión Alimenticia (TCA)

Este índice mide la eficiencia del organismo para convertir el alimento en masa corporal. Es decir, valores cercanos a uno significara una alta eficiencia del alimento y una adecuada capacidad del organismo para convertir esta en masa corporal i.e. 1 kilogramo de alimento ingerido, 1 kilogramo de masa corporal ganado.

$$TCA = \frac{\text{Alimento consumido (g)}}{\text{Peso ganado (g)}}$$

Ingesta del Alimento (% día)

Indica el porcentaje de alimento consumido al día por el organismo

$$\text{Ingesta del alimento (\%día)} = \frac{\text{Alimento consumido (g)día} \times 100}{\text{Peso promedio (g)}}$$

Tasa de Eficiencia Proteica (TEP)

Es un indicador que mide la eficiencia de las fuentes de proteínas en la dieta para proveer los aminoácidos esenciales a los organismos.

$$TEP = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Consumo de proteína (g)}}$$

Utilización Neta de Proteína (UNP %)

Esta relación mide la cantidad de aminoácidos que son convertidos en proteína, en relación a la cantidad de aminoácidos suministrados en el alimento. El UNP indica la calidad de la proteína ya que cuantifica la proteína que gana el pez con respecto a la proteína consumida. Su rango va de 100 a 0%, siendo el 100% como una utilización total de nitrógeno como proteína y 0% como que nada de nitrógeno incluido en las dietas fue convertido a proteína.

$$\text{UNP (\%)} = \frac{\text{Ganancia de proteína en el pez (g)}}{\text{Consumo de proteína (g)}} \times 100$$

Tasa de eficiencia económica (TEE)

Este índice relaciona el costo del alimento respecto a la eficiencia que tiene el organismo para convertir el alimento en biomasa

$$TEE = \frac{TCA \times \text{Costo del alimento (g)}}{\text{Peso ganado (g)}}$$

5.11. Análisis Estadístico

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado para ambos experimentos con tres replicas por tratamiento esto fue tanto para la asignación de peces como de tratamientos en cada uno de los tanques.

Los parámetros de crecimiento (peso ganado, TC y TCE), de eficiencia en el alimento (TCA, TEP y UNP), tasa de eficiencia económica (TEE) se les realizó una prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homoscedasticidad (prueba de Levené). Posteriormente se les aplicó un análisis de varianza de una vía y las diferencias significativas ($P < 0.05$) se determinaron con pruebas de comparaciones múltiples de Holm-Sidak, con el programa SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., USA).

Los datos que no pasaron la prueba de homogeneidad y normalidad ($P < 0.05$), se sometieron a un método no paramétrico de Kruskal-Wallis. Cuando se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó el análisis de comparaciones múltiples, prueba de Duncan cuando los datos fueron paramétricos y la prueba de Tukey cuando los datos fueron no paramétricos.

Los datos de crecimiento y nivel de reemplazo se ajustaron a una función polinomial o cuadrática de segundo orden, con la cual se analizó la relación

entre el peso ganado del pargo lunarejo como respuesta al nivel de reemplazo de harina de pescado en la dieta por concentrado de proteína de soya.

Así mismo para el segundo experimento se aplicó una función polinomial tomando en cuenta el porcentaje en incremento en peso, respecto a los niveles de inclusión de metionina en los tratamientos. Lo anterior con el objetivo de encontrar a partir de que inclusión de metionina se obtuvo el máximo crecimiento (Robins, 2006).

6. RESULTADOS

6.1. Experimento 1

6.1.1. Análisis Proximal de las Dietas Experimentales

El contenido de cenizas en las dietas experimentales presentó diferencias significativas entre todos los tratamientos ($P < 0.05$), disminuyendo su concentración conforme el aumento del nivel de reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya. El contenido de humedad no tuvo diferencias significativas entre el 20 y 100%, al igual que el 10 y 30%, sin embargo si se observaron diferencias significativas entre el resto de los tratamientos.

Respecto al nivel de lípidos solo se observaron diferencias significativas al 100% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, presentando un contenido del 9.2%, mientras que en el resto de los tratamientos se mantuvo de entre el 11.5 al 10.3%. El contenido de proteína fue ligeramente diferente al 20, 50 y 100% de sustitución, el resto de los tratamientos no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis proximal de las dietas utilizadas en el experimento de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya a distintos niveles en *L. guttatus*.

Análisis proximal (%)				
Dietas	Proteína	Lípidos	Humedad	Cenizas
D1-0	46.3 ± 0.1 ^a	11.5 ± 0.01 ^a	9.9 ± 0.03 ^a	13.2 ± 0.1 ^a
D2-10	46.0 ± 0.06 ^{ab}	11.5 ± 0.03 ^a	7.6 ± 0.2 ^c	12.6 ± 0.1 ^b
D3-20	46.4 ± 0.11 ^c	11.3 ± 0.01 ^a	8.4 ± 0.05 ^b	11.6 ± 0.2 ^c
D4-30	46.0 ± 0.6 ^a	11.6 ± 0.1 ^a	8.0 ± 0.1 ^c	11 ± 0.1 ^d
D5-40	46.1 ± 0.2 ^a	11.0 ± 0.2 ^a	4.8 ± 0.1 ^d	10.5 ± 0.1 ^e
D6-50	45.7 ± 0.2 ^b	10.3 ± 0.2 ^a	5.2 ± 0.1 ^e	9.8 ± 0.1 ^f
D7-100	46.8 ± 0.1 ^d	9.2 ± 0.1 ^b	8.4 ± 0.1 ^b	6.5 ± 0.04 ^g

Los valores representan el promedio y la desviación estándar con sus dos replicas. Los datos seguidos de la misma letra en forma de superíndice por variable no representan diferencias significativas $P > 0.05$ (Pruebas de Holm – Sidak).

6.1.2. Perfil de Aminoácidos de las Dietas Experimentales

Los resultados de perfil de aminoácidos en las dietas de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya se encuentran en la tabla 8. En donde se puede observar que el contenido de metionina se presenta en una concentración mayor en la dieta control (100% HP), en la dieta del 10, 30 y 40% CPS. Sin embargo esta disminuye en la dieta del 20% CPS y lo hace considerablemente en la dieta del 50 y 100% de CPS.

La lisina se mantiene constante en las dietas del 0, 10, 20 y 40% de concentración y presenta concentraciones mayores en la dieta del 20, 50 y 100%. La treonina incrementa su concentración al aumentar las sustituciones con CPS, donde la dieta control presentó de 0.25% base seca contra 1.35% en la dieta del 100% CPS. La dieta que presentó mayor concentración de aminoácidos fue en la del 40% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.

Tabla 8. Perfil de aminoácidos de las dietas utilizadas en el experimento de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya en *L. guttatus* (% base seca).

Dietas							
Aminoácido	D1-0	D2-10	D3-20	D4-30	D5-40	D6-50	D7-100
Ácido Aspártico	0.87	1.69	1.40	1.49	1.77	0.89	1.32
Ácido Glutámico	1.30	2.65	2.24	2.28	2.75	1.25	2.02
Serina	0.43	0.82	0.71	0.73	0.87	0.45	0.81
Histidina	0.20	0.39	0.32	0.32	0.44	0.16	0.27
Glicina-Treonina	0.25	0.64	0.53	0.52	0.82	0.99	1.35
Arginina	0.54	1.09	0.84	0.84	0.94	0.28	0.54
Alanina-Tirosina	1.00	1.93	1.53	1.55	1.67	1.54	0.16
Metionina	0.28	0.35	0.23	0.39	0.45	0.10	0.08
Valina	0.73	1.38	0.91	0.92	0.92	0.35	0.56
Fenilalanina	0.92	1.93	1.75	1.92	1.90	1.67	2.63
Isoleucina	0.24	0.51	0.61	0.34	0.37	0.12	0.22
Leucina	0.62	1-27	0.84	1.04	1.05	0.54	0.73
Lisina	0.04	0.05	0.32	0.08	0.04	0.68	0.72

6.1.3. Análisis Proximal de los Peces

El análisis proximal realizado al cuerpo de los peces al inicio y final del experimento presentó diferencias significativas entre sus tratamientos. El contenido de humedad no presento diferencias significativas ($P > 0.05$), sin embargo el mayor contenido de humedad se presentó en los peces inicio con un 70.1% mientras que el menor contenido se presenta en el tratamiento del 40% con un contenido del 66.2%.

Con respecto al contenido de cenizas solo se presentaron diferencias significativas en los peces inicio y el tratamiento del 100% mientras que en los niveles del 0 al 50% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya no hubo diferencias. El contenido de lípidos no se observaron

diferencias significativas en sus tratamientos, y estos se encuentran en un rango que va desde 8.1 al 9% base seca.

En cuanto al contenido de proteína el tratamiento con el 40% de sustitución fue el que presentó mayor contenido de proteína (19.2%) y tubo diferencias significativas al resto de los tratamientos ($P < 0.05$), el menor contenido de proteína fue presentado por los tratamientos del 0 y 10% de sustitución (Tabla 9).

Tabla 9. Composición proximal de peces enteros de *lutjanus guttatus* al inicio y al final del experimento alimentados con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.

Análisis proximal (%)				
Dietas	Proteína	Lípidos	Humedad	Cenizas
Inicio	18.3 ± 0.02	4.7 ± 0.1	70.1 ± 0.3	3.3 ± 0.06
D1-0	17.7 ± 0.05 ^b	8.7 ± 0.06	68.0 ± 1.4	4.6 ± 0.07 ^a
D2-10	17.7 ± 0.04 ^b	8.3 ± 0.06	68.2 ± 0.3	4.8 ± 0.05 ^a
D3-20	17.9 ± 0.04 ^b	8.3 ± 0.05	68.5 ± 0.5	4.7 ± 0.01 ^a
D4-30	18.5 ± 0.07 ^b	9.1 ± 0.04	66.8 ± 6.4	4.4 ± 0.07 ^a
D5-40	19.2 ± 0.05 ^a	8.7 ± 0.0	66.2 ± 2	5 ± 0.02 ^a
D6-50	17.5 ± 0.08 ^b	8.1 ± 0.07	69.5 ± 2.2	4.4 ± 0.06 ^a
D7-100	17.9 ± 0.05 ^b	9.0 ± 0.07	69.06 ± 0.8	3.4 ± 0.04 ^b

Los valores representan el promedio y la desviación estándar con sus dos replicas. Los datos seguidos de la misma letra en forma de superíndice no representan diferencias significativas $P > 0.05$ (Pruebas de Holm – Sidak)

6.1.4. Perfil de Aminoácidos del Músculo de Peces

En la Tabla 10, se presentan los resultados del perfil de aminoácidos de filete de *L. guttatus* y se puede observar que su tendencia es similar al de las dietas experimentales es decir, la concentración en la dieta del 20, 40 y 50% es mayor que en la dieta control, sin embargo esta disminuye en la dieta del

100%. También se puede observar que los filetes del pescado en su composición inicial, tenían una concentración mayor de metionina que la dieta control utilizada en este experimento. Por otra parte la deposición de metionina se encuentra en mayor concentración en el filete que en las dietas experimentales. En esta ocasión la concentración de treonina presentó diferencias en comparación a los resultados obtenidos en las dietas experimentales ya que esta aun que aumenta con forme lo hace la sustitución de HP por CPS, tiene disminuciones al 30, 40 y 50% de reemplazo.

La lisina tiende a aumentar con forme lo hace el CPS sin embargo al igual que la treonina presenta disminuciones al 40% y al 100% de sustitución. En general la totalidad de concentración de aminoácidos tiende a aumentar conforme lo hace la inclusión de concentrado en el músculo.

Tabla 10. Perfil de aminoácidos de filete de *L. guttatus* en el experimento de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya (% base seca).

Aminoácido	Filete inicio	Dietas						
		0	10	20	30	40	50	100
Ácido Aspártico	1.59	2.20	2.23	3.77	3.47	2.50	2.71	3.43
Ácido Glutámico	2.66	3.30	3.42	5.87	5.25	3.71	4.13	3.92
Serina	0.97	1.08	1.08	1.95	1.73	1.22	1.44	0.58
Histidina	0.36	0.47	0.52	0.85	0.77	0.50	0.55	2.43
Glicina-Treonina	2.13	2.18	2.19	3.85	3.63	2.66	3.08	3.57
Arginina	1.05	1.40	1.42	2.57	2.33	1.65	1.77	2.35
Alanina-Tirosina	2.63	2.81	2.87	4.90	4.59	3.37	3.86	4.61
Metionina	0.68	0.30	0.23	0.93	0.42	0.97	1.20	1.03
Valina	1.16	3.34	2.76	3.15	6.52	2.31	2.31	3.08
Fenilalanina	3.93	2.39	632	1.50	2.62	3.52	7.07	8.18
Isoleucina	0.45	0.71	0.81	1.33	1.35	0.84	0.86	1.14
Leucina	1.51	1.83	1.87	3.23	3.07	2.28	2.58	2.87
Lisina	1.89	1.57	2.20	2.57	3.39	2.81	3.68	4.20

6.1.5. Parámetros de Crecimiento y Utilización del Alimento

6.1.5.1. Incremento en Peso

La mayor ganancia en peso de los peces se logró con el de 40% de sustitución harina de pescado por concentrado de proteína de soya, aunque no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos de 0, 10, 20, 30, 40 y 50% de sustitución. Los peces con menor ganancia en peso fueron los del 100% de reemplazo, siendo significativamente diferentes ($P < 0.05$) a los demás tratamientos (Tabla 11 y Figura 13).

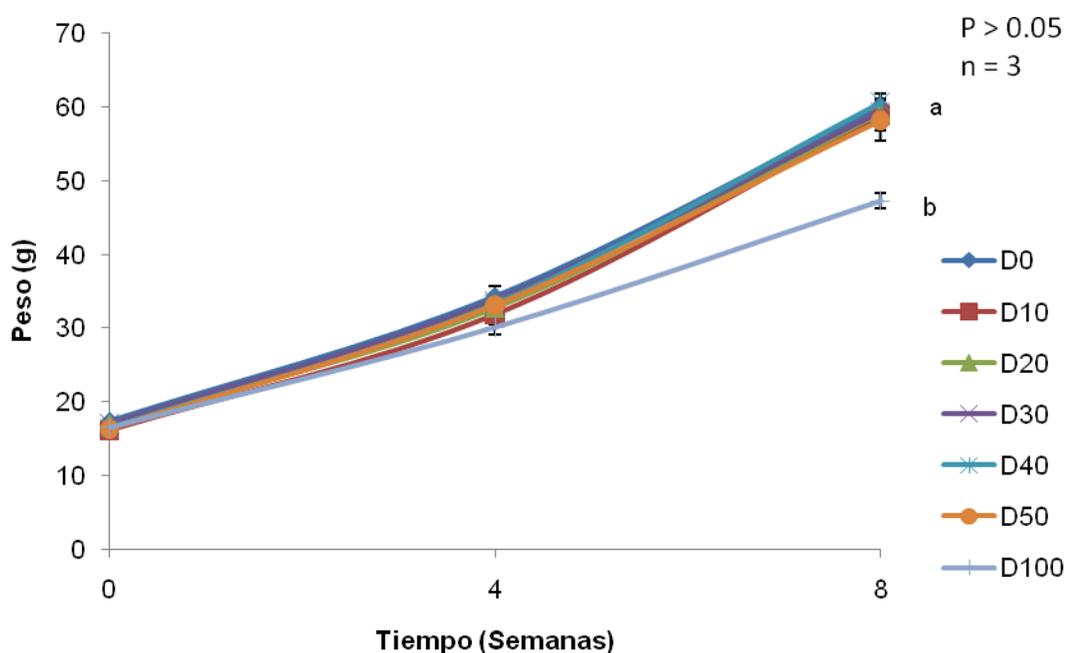


Figura 13. Crecimiento de *L. guttatus* alimentado con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, durante un periodo de 8 semanas.

Tabla 11. Parámetros de crecimiento y consumo del alimento del *L. guttatus* alimentado con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, durante un periodo de 8 semanas. TC % = tasa de crecimiento; TCE (%) = Tasa de Crecimiento Especifico (día^{-1}); TCA = Tasa de Conversión Alimenticia; TEP (%) = Tasa de Eficiencia Proteica; UNP (%) = Utilización Neta de Proteína.

Dietas							
Parámetros	0	10	20	30	40	50	100
Peso inicial (g)	17.34 ± 0.8	16.0 ± 0.2	17 ± 0.2	16.4 ± 0.16	16.3 ± 0.2	17 ± 1.0	16.5 ± 0.6
Peso final (g)	60.1 ± 1.8 ^a	59 ± 2.08 ^a	59 ± 1.9 ^a	59.3 ± 1.9 ^a	60.7 ± 1.2 ^a	58.2 ± 2.7 ^a	47.3 ± 3.2 ^b
Incremento en peso (g)	42.8 ± 2.1 ^a	42.8 ± 1.9 ^a	42.3 ± 1.9 ^a	42.9 ± 1.9 ^a	44.4 ± 1.3 ^a	41.3 ± 2.1 ^a	30.8 ± 2.8 ^b
TC (%)	247.3 ± 20.8 ^a	266.4 ± 8.5 ^a	249.4 ± 12.5 ^a	261.3 ± 13.3 ^a	273.0 ± 10.7 ^a	243.6 ± 13.4 ^a	186.6 ± 12.6 ^b
TCE (% día^{-1})	2.2 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.04 ^a	2.2 ± 0.06 ^a	2.3 ± 0.07 ^a	2.4 ± 0.05 ^a	2.2 ± 0.07 ^a	1.9 ± 0.08 ^b
Consumo de alimento (g día^{-1})	0.88 ± 0.5 ^a	0.89 ± 0.8 ^a	0.85 ± 0.9 ^{ab}	0.90 ± 0.4 ^a	0.85 ± 0.5 ^{ab}	0.80 ± 0.7 ^{ab}	0.72 ± 0.3 ^b
TCA	1.2 ± 0.06 ^b	1.2 ± 0.03 ^b	1.1 ± 0.06 ^b	1.2 ± 0.02 ^b	1.0 ± 0.04 ^b	1.0 ± 0.06 ^b	1.3 ± 0.2 ^a
TEA (%)	87 ± 4.6 ^a	85.7 ± 3 ^a	88.8 ± 4.3 ^a	84.7 ± 1.3 ^a	93.7 ± 3.3 ^a	91.8 ± 4.6 ^a	76.8 ± 9.2 ^b
TEP (%)	1.9 ± 0.1 ^{ab}	1.8 ± 0.06 ^{ab}	1.9 ± 0.09 ^{ab}	1.8 ± 0.03 ^{ab}	2.0 ± 0.07 ^a	2.0 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.2 ^b
UNP (%)	33.3 ± 1.8 ^{bc}	33 ± 1.1 ^{bc}	34.2 ± 1.7 ^{ab}	34.1 ± 0.5 ^{ab}	39 ± 1.4 ^a	35.1 ± 1.8 ^{ac}	29.4 ± 3.5 ^b

Los valores representan el promedio y la desviación estándar con sus dos replicas. Los datos seguidos de la misma letra en forma de superíndice por columna no representan diferencias significativas $P > 0.05$ (Pruebas de Holm – Sidak)

6.1.5.2. Tasa de Crecimiento y Tasa de Crecimiento Especifico

Los parámetros de TC % y TCE (% día) tuvieron una tendencia similar a los resultados del peso ganado obteniendo diferencias significativas ($P < 0.05$) solamente en los peces que consumieron la dieta con el 100% de reemplazo de harina de pescado. Mientras que en los tratamientos de 0-50% no se presentaron diferencias significativas (Tabla 11).

6.1.5.3. Consumo del Alimento

Un consumo alimenticio menor fue observado en la dieta del 100% de reemplazo de harina de pescado por concentrado de soya, siendo significativamente diferente al resto de los tratamientos ($P < 0.05$). Por otra parte no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos del 20, 40 y 50% de reemplazo de igual manera en 0, 10, 30% de sustitución ($P > 0.05$), (Tabla 11).

6.1.5.4. Tasa de Consumo Alimenticio

Los peces alimentados con la dieta de 100% de reemplazo tuvieron un TCA más elevado al del resto de los tratamientos, siendo el tratamiento de 40 y 50% de sustitución donde los peces que obtuvieron tasas de conversión alimenticia menores. No se presentaron diferencias significativas entre los peces de los tratamientos 0, 10, 20, 30 y 50%, sin embargo las TCA de los tratamientos 40 y 100% presentaron diferencias significativas con el resto de los peces (Tabla 11).

6.1.5.5. Tasa de Eficiencia en el Alimento

La tasa de eficiencia alimenticia (TEA), tiene un comportamiento similar a la tasa de conversión alimenticia (TCA), ya que el tratamiento con menores resultados se presentan en el 100% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya con un porcentaje de 76.8 siendo significativamente diferente al resto de los tratamientos ($P < 0.05$), el mejor resultado se presentó en los peces alimentados con la dieta de 40% de sustitución con un porcentaje de 93.7 (Tabla 11).

6.1.5.6. Tasa de Eficiencia Proteica

Los datos de la tasa de eficiencia proteica (TEP) se pueden observar en la tabla 11 y figura 14, en donde los peces alimentados con la dieta del 40 y 50% obtuvieron los mayores valores de tasa de eficiencia proteica. Al realizarse el análisis de varianza las dietas de 0-30% de sustitución no mostraron diferencias significativas, mientras que las dietas con 40 y 50% fueron diferentes significativamente entre la dieta del 100% de reemplazo.

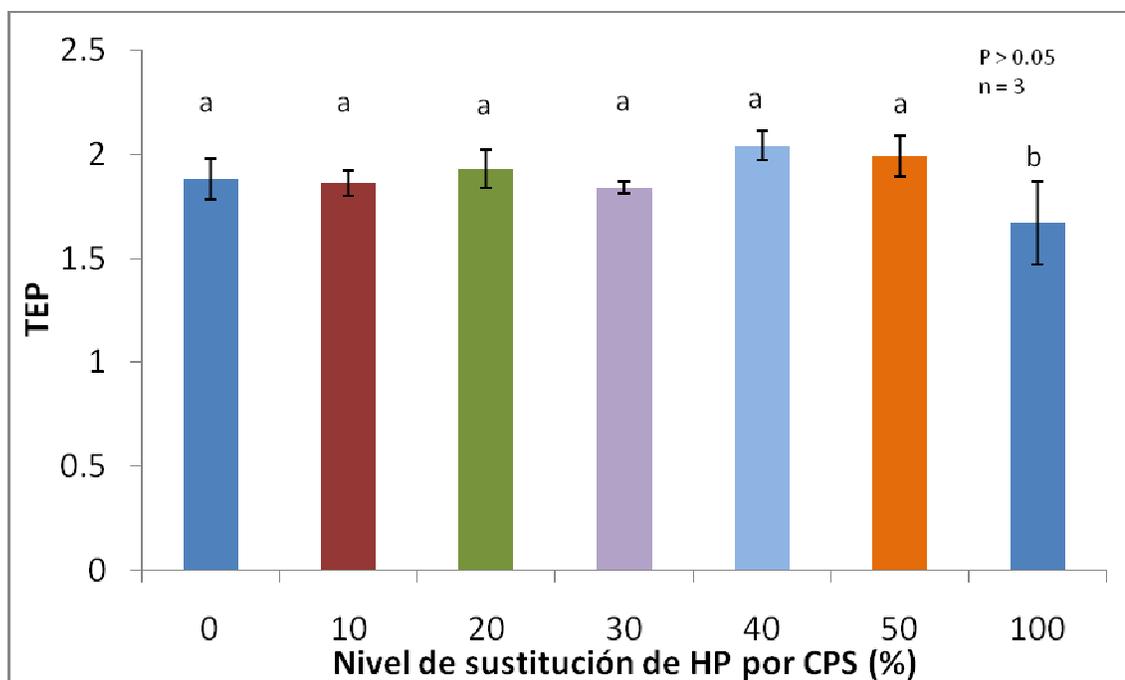


Figura 14. Tasa de eficiencia proteica del *L. guttatus* alimentado con diferentes niveles de reemplazo de harina de pescado por CPS.

6.1.5.7. Utilización Neta de Proteína

Los resultados de utilización neta de proteína (UNP) se encuentran en la Tabla 11 y Figura 15, en donde se presentan diferencias significativas entre los peces ($P < 0.05$), dietas con una sustitución del 40% fue el que tuvo mejores resultados con un valor de 39% y este no es diferente significativamente a los tratamientos del 20, 30 y 50%, sin embargo el resultado con mayor valor fue presentado por la dieta del 100% de sustitución y este no fue estadísticamente diferente a las dietas del 0, 10, 20 y 30% de sustitución. Así mismo la UNP de los peces alimentados con la dieta con el 50% no fue estadísticamente diferente de las dietas del 0 y 10% de reemplazo.

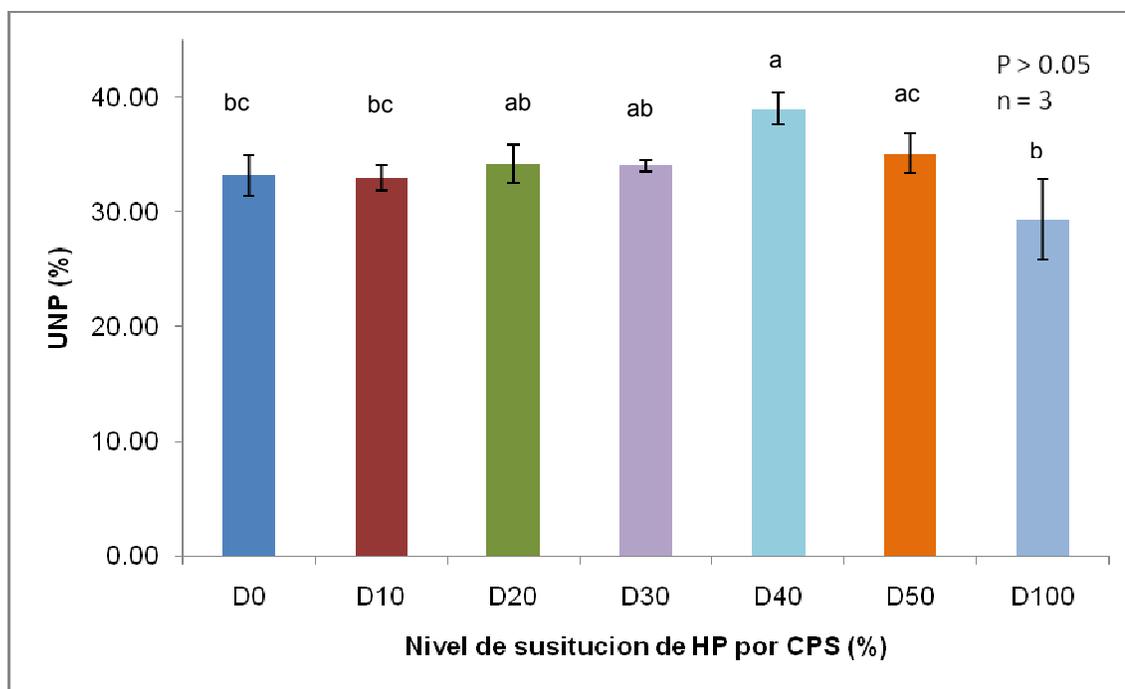


Figura 15. Utilización Neta de Proteína del *L. guttatus* en la evaluación de diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por CPS.

6.1.6 Relación Peso Ganado-Nivel de Sustitución

Los datos de crecimiento en ganancia en peso y nivel de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya fueron ajustados a un análisis de regresión polinomial o cuadrática. En la cual se observó el crecimiento máximo en los peces se obtiene con el 27.2% de reemplazo de harina de pescado ($Y = -0.0142x^2 + 0.7731x + 250.5$) (Figura 16).

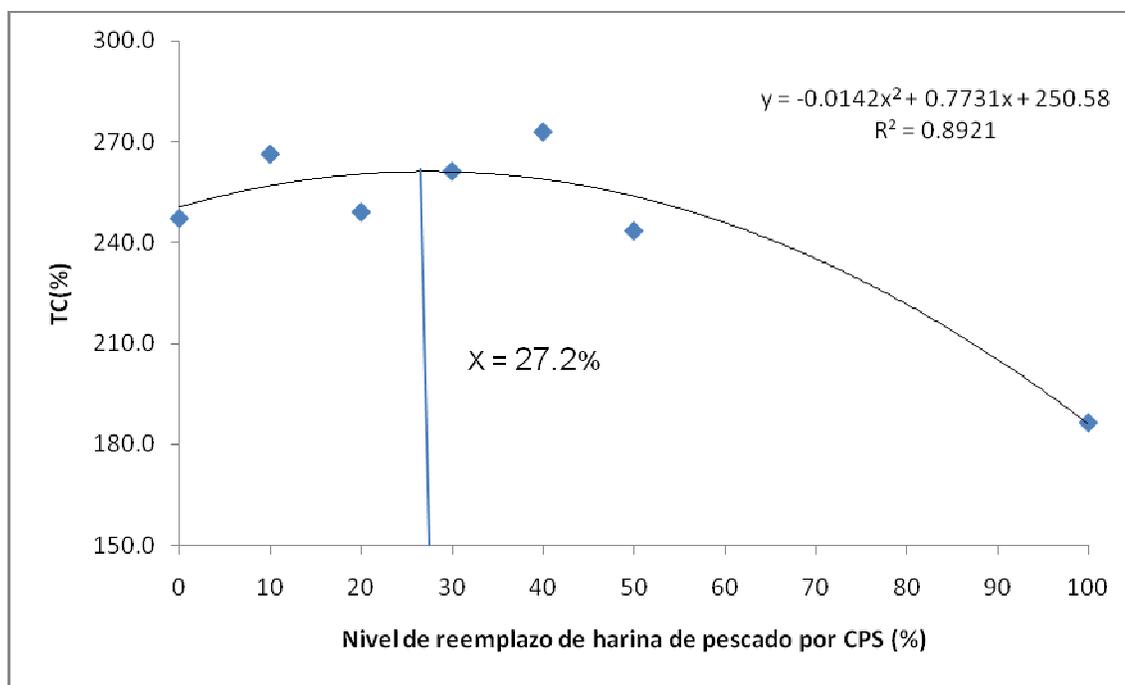


Figura 16. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona el crecimiento en incremento en peso, con respecto al nivel de reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.

6.1.7. Tasa de Eficiencia Económica (TEE)

Los resultados de costo del alimento y tasa de eficiencia económica se muestran en la Tabla 12, en donde el costo del alimento incrementa con forme lo hace la inclusión de concentrado de proteína de soya, debido a que esta resultó ser más cara que la harina de pescado (11.7 y 23.4 \$/kg respectivamente), utilizada para este experimento lo que afectó la tasa de eficiencia económica. La dieta con un 40% de inclusión de CPS se obtuvo una TEE menor que en el resto de las dietas, mientras que la dieta con una sustitución total de harina de pescado presentó una TEE de 3944.4.

Los resultados del análisis de regresión polinomial se observan en la Figura 17, en donde al derivar la ecuación $Y = 0.3065 x^2 - 13.152 x + 217.8$ e igualarla a cero, se obtiene el nivel de inclusión óptimo de CPS, tomando la TEE como variable dependiente y el portaje de CPS como variable independiente. De acuerdo a los resultado se obtiene una TEE de 1983.53 con una CPS de 21.45%. La regresión polinomial nos da una $R^2 = 0.97\%$.

Tabla 12. Resultados de Costo del alimento y Tasa de Eficiencia económica (TEE) en el experimento de sustitución de HP por CPS.

Niveles de CPS en los tratamientos	Costo del alimento (\$/kg)	TEE
0	76.34	2060.2
10	77.86	2124.4
20	79.43	2120.6
30	80.79	2227.9
40	82.26	1980.1
50	83.28	2206.9
100	91.02	3944.9

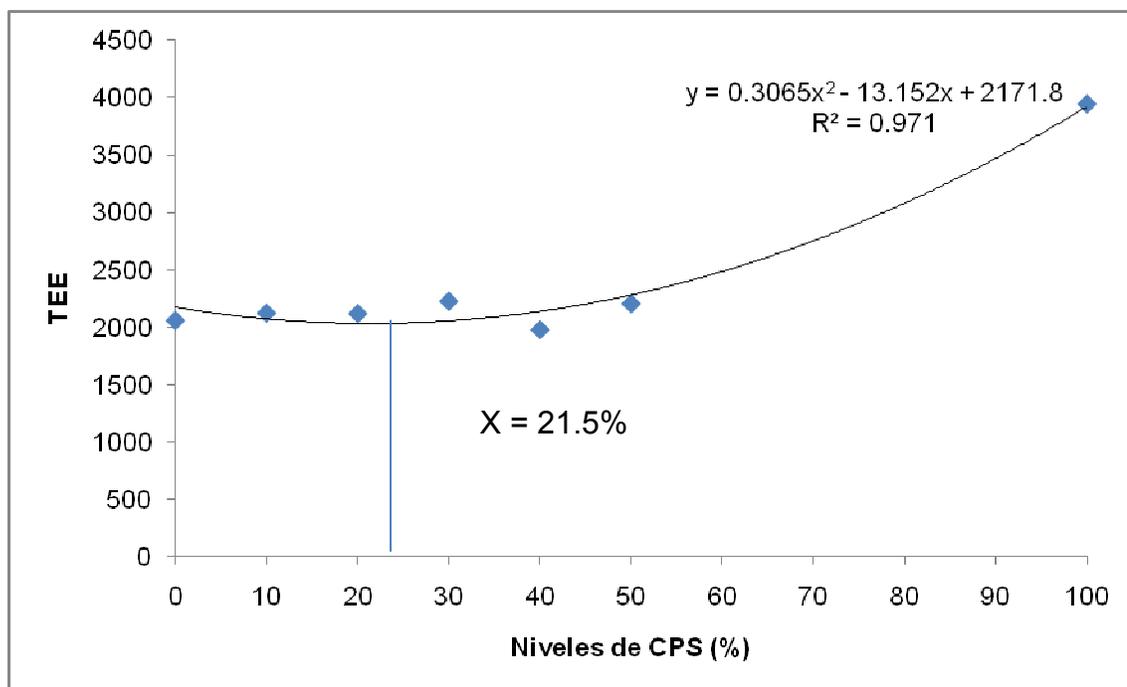


Figura 17. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona la Tasa de Eficiencia Económica (TEE) respecto al nivel de harina de pescado por concentrado de proteína de soya.

6.2 Experimento 2

6.2.1 Análisis Proximal de Dietas Experimentales

Los resultados de composición proximal de las dietas experimentales se presentan en la Tabla 13, la dieta control que es a base de harina de pescado presentó mayor contenido de cenizas y fue diferente significativamente a los demás tratamientos ($P < 0.05$). Respecto al contenido de humedad la dieta control no fue diferente significativamente con el tratamiento de 1.5% de inclusión de metionina. Así mismo la dieta con 0% de inclusión de metionina no tuvo diferencias significativas con la dieta del 2% de complementación; mientras que los tratamientos del 0.5, 1 y 2.5% fueron diferentes a todos los anteriores ($P < 0.05$).

El contenido de lípidos en las dietas experimentales no presentó diferencias significativas con el 0.5 y 1.0 de inclusión; de igual manera los tratamientos de 2.0 y 2.5% no presentaron diferencias entre sí, sin embargo los tratamientos de 0 y 1.5% fueron diferente a todos los anteriores. Por otro lado el contenido proteico de los tratamientos del 1.5 al 2.5% no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$), pero la dieta con 0.5% de inclusión de metionina si fue diferente a todos los tratamientos ($P < 0.05$). La dieta control no fue diferente con el 0 y 1% de inclusión.

Tabla 13. Análisis proximal de las dietas utilizadas en el experimento de complementación de diferentes niveles de DL - metionina, en el *L. guttatus*.

Análisis Proximal (%)				
Dietas	Proteína	Lípidos	Humedad	Cenizas
Control	46.7±0.2 ^b	8.5±0.1 ^b	7.4±0.1 ^b	13.2±0.1 ^a
0 %	46.8±0.1 ^b	7.4±0.1 ^c	9.6±0.1 ^a	9.3±0.3 ^b
0.5 %	45.7±0.2 ^c	8.6±0.2 ^b	8.7±0.03 ^c	9.5±0.1 ^b
1.0 %	46.3±0.1 ^b	8.8±0.01 ^b	5.7±0.04 ^d	9.4±0.1 ^b
1.5 %	47.5±0.1 ^a	10.0±0.1 ^d	7.4±0.3 ^b	9.5±0.2 ^b
2.0 %	47.8±0.1 ^a	11.7±0.1 ^a	10.0±0.1 ^a	9.5±0.2 ^b
2.5 %	47.9±0.2 ^a	11.4±0.1 ^a	6.0±0.1 ^e	9.6±0.1 ^b

Los valores representan el promedio y la desviación estándar con sus dos replicas. Los datos seguidos de la misma letra en forma de superíndice por columna no representan diferencias significativas $P > 0.05$ (Pruebas de Holm Sidak).

6.2.2 Perfil de Aminoácidos de Dietas Experimentales

La concentración de metionina es mayor en la dieta control que en la dieta del 0% de inclusión. Esta concentración tiende a aumentar conforme se adiciona de metionina en las dietas, sin embargo esta concentración es más alta considerablemente al 2.0 y 2.5% de DL-metionina. Al igual que en la dieta control la cisteína se encuentra en mayor concentración que en la dieta del 0 % y esta tiende a ser mayor en la dieta del 0.5% sin embargo tiene una ligera disminución en las dietas del 1.0, 1.5 y 2.0%.

Para la lisina la concentración tiende a ser mayor conforme lo hace la inclusión de metionina en la dieta, sin embargo esta presenta una ligera disminución en la dieta del 1.5%, aunque se encuentra en mayor cantidad en la dieta del 2.0%. En cuanto a la totalidad de aminoácidos presentes en las dietas experimentales, la

dieta del 2.0% DL-metionina presentó un concentración mayor al resto de las dietas, seguida de la dieta del 2.5%. Esta concentración tiene ligeras variaciones entre las dietas del 0.5, 1.0 y 1.5% (Tabla 14).

Tabla 14. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales utilizadas en el experimento de complementación de diferentes niveles de DL-metionina en el *L. guttatus* (g/100g de dieta base seca)

Aminoácido / metionina	Dietas						
	Control	0%	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
Ácido Aspártico	0.89	1.07	1.39	0.91	0.72	2.71	1.76
Ácido Glutámico	1.31	1.63	2.23	1.60	2.45	5.23	3.54
Serina	0.43	0.53	0.70	0.64	0.95	2.15	1.52
Histidina	0.15	0.18	0.26	0.22	0.36	0.79	0.54
Glicina-Treonina	1.02	0.98	1.38	1.30	1.95	4.79	3.47
Arginina	0.54	0.55	0.77	0.61	0.87	1.47	1.05
Alanina-Tirosina	1.17	1.03	1.44	1.30	1.94	4.31	2.98
Metionina	0.24	0.22	0.45	0.49	0.76	2.54	2.44
Cisteína	1.03	0.95	2.09	1.45	1.07	1.46	1.73
Valina	0.75	0.63	0.91	0.77	0.73	0.97	0.72
Fenilalanina	1.51	1.09	1.82	2.67	2.52	6.66	4.65
Isoleucina	0.26	0.24	0.36	0.31	0.36	0.67	0.51
Leucina	0.68	0.63	0.95	0.88	1.18	2.73	1.95
Lisina	0.35	0.20	0.45	0.70	0.61	2.65	2.13

6.2.3 Análisis Proximal de Peces

Los resultados de la composición proximal en los peces utilizados durante el experimento de complementación de metionina se muestran en la Tabla 15, en donde se puede observar que los peces al inicio del experimento no presentaron diferencias en proteína, lípidos, humedad y cenizas en comparación con los resultados de los peces utilizados durante las 12 semanas que duró el experimento. El contenido de proteína no mostró una tendencia a aumentar conforme lo hacía la inclusión de metionina en las dietas para *L. guttatus* por lo que no se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$).

Con respecto al contenido de lípidos este se encontró en un porcentaje de 7.8 a 5.6 y solo se presentaron diferencias significativas en el tratamiento con el 2.5% DL-metionina, el resto de los tratamientos fueron similares entre sí. Al igual que en el contenido de proteína no se presentó una tendencia de incremento o disminución conforme lo hacía la adición de metionina para cada una de los tratamientos.

El contenido de humedad y cenizas no mostró diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos; la humedad se encontró en un rango del 70 a 72%, y que las cenizas de 4.7 a 5.1% (Tabla 15).

Tabla 15. Análisis proximal de peces utilizadas en el experimento de complementación de diferentes niveles de DL-metionina, en el *L. guttatus*.

Análisis Proximal (%)				
Peces	Proteína	Lípido	Humedad	Cenizas
Inicio	16.8±0.01	6.1±0.01	70.9±0.3	4.7±0.05
Control	16.53± 0.03	7.8±0.03 ^a	70.1±0.05	5.0±0.04
0 %	16.9±0.0.04	6.5±0.04 ^a	71.0±0.7	4.9±0.07
0.5 %	16.6±0.05	7.2±0.02 ^a	70.7±1.6	5.0±0.01
1.0 %	16.7±0.0.7	6.6±0.02 ^a	70.9±0.07	4.9±0.2
1.5 %	16.7±0.0.2	7.4±0.09 ^a	71.6±1.5	4.7±.0.03
2.0 %	16.7±0.0.2	6.9±0.05 ^a	70.6±0.7	5.0±0.04
2.5 %	16.6±0.03	5.6±0.0.5 ^b	72.3±0.4	5.1±0.05

Los valores representan el promedio y la desviación estándar con sus dos replicas. Los datos seguidos de la misma letra en forma de superíndice no representan diferencias significativas $P>0.05$ (Prueba de Tukey).

6.2.4 Perfil de Aminoácidos en el Músculo de Peces

En cuanto al perfil de aminoácidos del músculo de peces se presenta en la Tabla 16, en donde se puede observar que los peces al inicio del experimento contenían menor concentración de metionina que la dieta control, sin embargo esta fue mayor en la dieta del 0% que en la dieta del 0.5, 1.0 y 1.5% las cuales se mantienen estables entre sí. Por otro lado se presenta una disminución en la concentración de los tratamientos de 2.0 y 2.5% metionina. La presencia de metionina en el músculo de los peces es mayor en las dietas del 1.0 y 1.5%, mientras que en el resto de las dietas se encuentra en menor cantidad en las dietas del 2.0 y 2.5%.

Los resultados de lisina no se comportan de manera similar que el de la metionina y la cisteína esta tiende a ser mayor en los filetes en su composición inicial y es similar en las dietas del 0 y 0.5% para posteriormente disminuir en el resto de las dietas, siendo menor en la dieta del 2.5% de adición de metionina.

La deposición de aminoácidos en el músculo de peces, al igual que en el experimento anterior tiende a ser mayor en el musculo que en las dietas. De igual manera la totalidad de aminoácidos tuvo ligeras diferencias entre los filetes inicio y tratamientos de 0.5, 1.0 y 1.5% y la deposición fue mayor que en las dietas del 2.0 y 2.5%.

Tabla 16. Perfil de aminoácidos de filete de *L. guttatus* en el experimento de inclusión de diferentes niveles de DL-metionina (% base seca).

Aminoácido/ tratamiento	Musculo de peces							
	F. inicio	Control	0%	0.5%	1.0%	1.5%	2.0 %	2.5%
Ácido Aspártico	3.35	4.07	6.43	5.01	4.88	5.84	3.87	2.27
Ácido Glutámico	6.61	5.89	9.88	7.39	7.24	8.41	5.58	3.73
Serina	3.04	1.76	3.09	2.36	2.32	2.63	1.82	1.15
Histidina	1.12	0.80	1.33	0.96	1.00	1.01	0.80	0.46
Glicina-Treonina	8.58	3.59	6.03	4.47	4.49	5.14	3.46	2.28
Arginina	2.16	2.05	3.92	2.94	3.04	3.18	2.23	1.38
Alanina-Tirosina	7.04	4.34	8.09	6.38	6.16	2.87	4.86	3.05
Metionina	0.27	1.39	2.57	1.98	1.52	1.91	1.39	0.96
Cisteína	3.99	5.22	5.12	4.87	6.78	7.73	4.38	5.16
Valina	1.56	2.11	4.00	3.12	3.55	2.71	1.84	1.46
Fenilalanina	9.29	5.89	10.89	8.52	8.03	1.62	1.30	3.42
Isoleucina	0.93	0.85	1.71	1.32	1.39	1.31	0.91	0.63
Leucina	4.44	2.77	5.23	4.08	3.94	4.31	2.94	1.98
Lisina	6.84	2.45	6.32	6.43	3.06	4.15	2.83	3.50

6.2.5 Parámetros de Crecimiento y Utilización del Alimento

6.2.5.1 Incremento en Peso

Los resultados de crecimiento de los peces en el experimento de inclusión de diferentes niveles de DL-metionina en dietas formuladas a base de harina de pescado y concentrado de proteína de soya se encuentran en Tabla 17. En donde la dieta del 1-1.5% no presentó diferencias significativas ($P>0.05$), con respecto a la dieta control, además los peces alimentados con la dieta control y de 1.5 % fueron las que presentaron mayor crecimiento con valores de 62.6 y 60.7 g respectivamente, mientras que la que presento menor crecimiento fue la dieta de 2.5% de inclusión de metionina, y, estas no fueron diferentes significativamente entre los tratamientos de 0, 0.5 y 2%. Por lo que los resultados de incremento en peso tienden a comportarse de manera similar a los de crecimiento, en donde la mayor ganancia en peso fue en la dieta control y 1.5 % de complementación de metionina con 41.9 y 40.4 g respectivamente. Mientras que los peces a base de dieta del 2.5 % fueron los de menor ganancia en peso con 29.2 g durante un periodo de 12 semanas.

La tendencia de crecimiento durante las 12 semanas se observa en la Tabla 15 y Figura 18, en donde el crecimiento de los peces tiende a aumentar conforme lo hace la adición de DL-metionina, hasta llegar a un punto máximo en la dieta de 1.5% y posteriormente disminuir en las del 2 y 2.5% de inclusión.

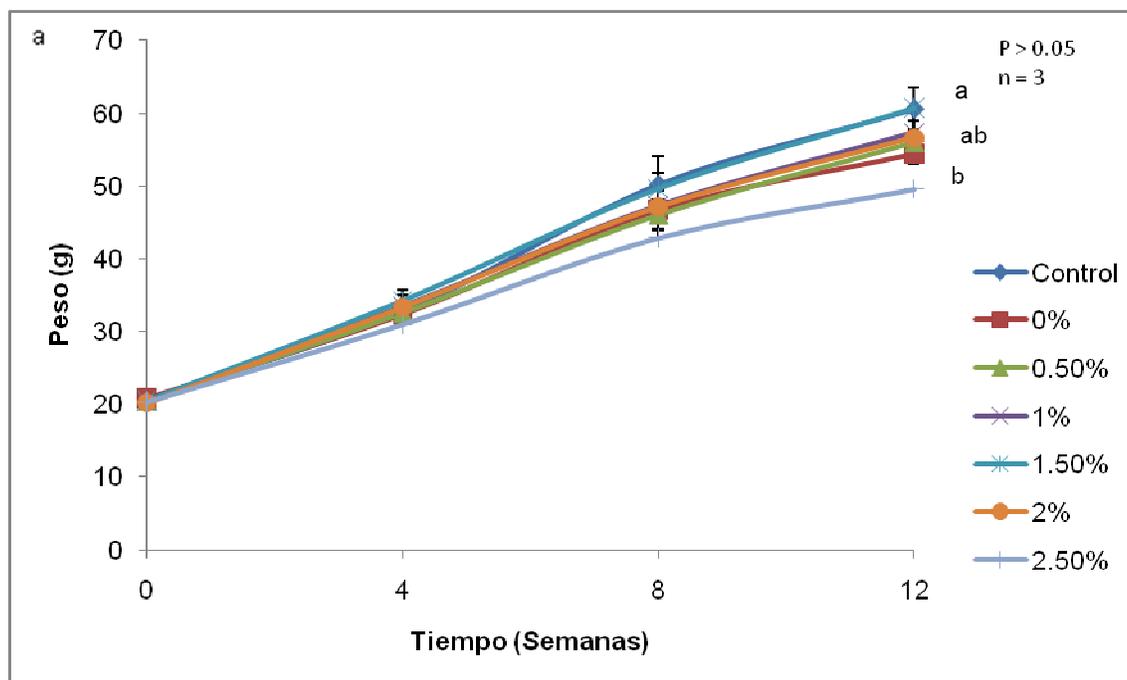


Figura 18. Crecimiento de pargo flamenco alimentado con diferentes niveles de inclusión de DL - metionina, durante un periodo de 12 semanas.

Tabla 17. Parámetros de crecimiento y consumo de alimento del *L. guttatus* alimentado con diferentes niveles de inclusión de DL.- Metionina durante un periodo de 12 semanas. TC (%) = Tasa de Crecimiento; TCE (%) = Tasa de Crecimiento Especifico (dia^{-1}); TCA = Tasa de conversión alimenticia. TEA = Tasa de Eficiencia en el Alimento. TEP = Tasa de Eficiencia Proteica. UTP = Utilización Neta de Proteína.

Dietas experimentales con diferentes niveles de DL – Metionina							
Parámetros de crecimiento y eficiencia en el alimento	Niveles de inclusión de DL.- Metionina						
	Control	50 HP – 50 CPS + 0% met	50 HP – 50 CPS + 0.5 % met	50 HP – 50 CPS + 1 % met	50 HP – 50 CPS + 1.5 % met	50 HP – 50 CPS + 2 % met	50 HP – 50 CPS + 2.5 % met
Peso inicial (g)	20.7 ± 0.3	20.8 ± 0.2	20.4 ± 0.1	20.5 ± 0.5	20.2 ± 0.3	20.7 ± 0.1	20.4 ± 0.3
Peso final (g)	62.6 ± 2.2 ^a	54.5 ± 2.6 ^b	56 ± 1.40 ^{bd}	57.3 ± 1.3 ^a	60.7 ± 2.9 ^a	56.6 ± 1.6 ^{ac}	49.6 ± 2.3 ^{bcd}
Incremento en peso (g)	41.9 ± 2.4 ^a	33.7 ± 2.4 ^b	35.7 ± 2.7 ^{bd}	36.9 ± 1.6 ^a	40.4 ± 2.7 ^a	35.9 ± 1.5 ^{ac}	29.2 ± 2.6 ^{bcd}
TC (%)	202.5 ± 13.5 ^a	161.6 ± 9.9 ^b	174 ± 6.3 ^a	180.2 ± 11 ^a	200 ± 10.8 ^a	173.3 ± 6.6 ^a	142.8 ± 14.8 ^b
TCE (% dia^{-1})	1.3 ± 0.05 ^a	1.1 ± 0.04 ^b	1.2 ± 0.03 ^a	1.2 ± 0.05 ^a	1.3 ± 0.04 ^a	1.2 ± 0.03 ^a	1.0 ± 0.1 ^b
Consumo de alimento total (g día^{-1})	0.84 ± 0.7	0.74 ± 0.3	0.74 ± 0.8	0.72 ± 0.8	0.76 ± 0.9	0.78 ± 0.y	0.76 ± 0.1
TCA	1.5 ± 0.04 ^a	1.6 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.1 ^a	1.4 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.07 ^a	1.7 ± 0.07 ^b
TEA	67.1 ± 1.9 ^a	61.9 ± 6 ^a	64.9 ± 5 ^a	69.7 ± 5.1 ^a	72.5 ± 7.4 ^a	62.5 ± 2.5 ^a	58.6 ± 2.5 ^b
TEP	1.3 ± 0.04 ^a	1.2 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.05 ^a	1.1 ± 0.05 ^b
UNP	20.9 ± 0.6 ^{ab}	19.0 ± 1.8 ^{ab}	20.0 ± 1.6 ^{ab}	21.4 ± 1.6 ^a	21.6 ± 2.2 ^a	18.5 ± 0.8 ^{ab}	17.2 0.7 ^b

Los valores representan el promedio y la desviación estándar con sus dos replicas. Los datos seguidos de la misma letra en forma de superíndice por columna no representan diferencias significativas $P > 0.05$ (Pruebas de Holm – Sidak)

En la regresión polinomial o cuadrática, se obtuvo que el crecimiento máximo de los peces se da a un nivel de inclusión de 1.16% de DL-metionina en dietas a base de harina de pescado y CPS ($y = -24.72x^2 + 57.377x + 156.96$) (Figura 19).

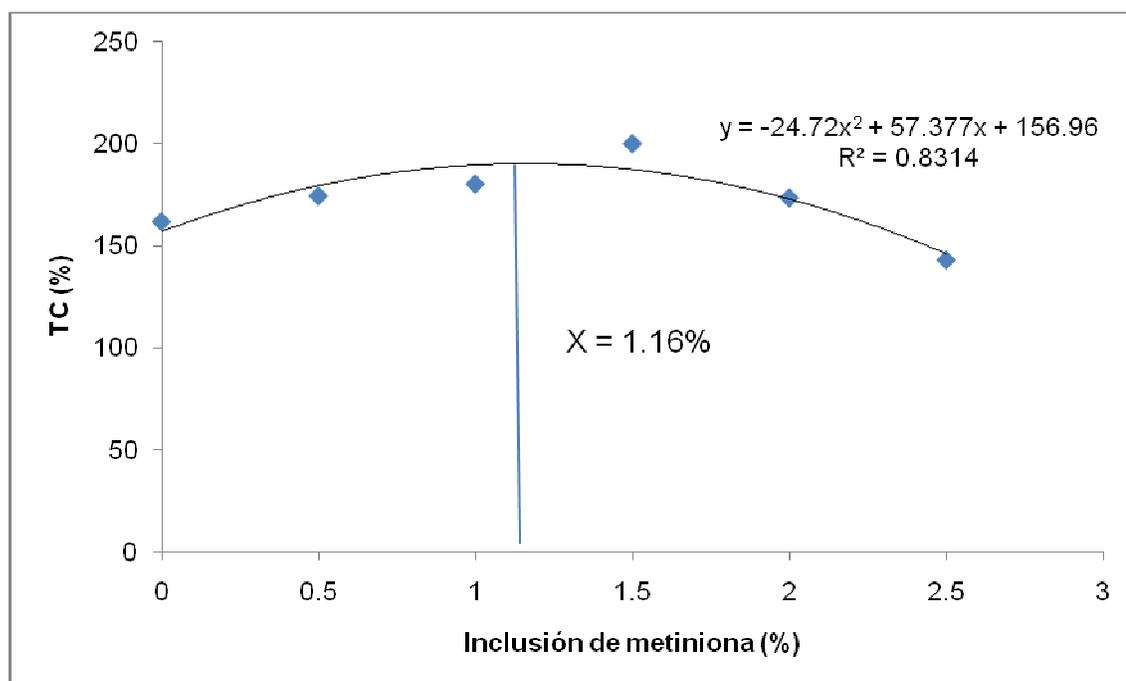


Figura 19. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona el crecimiento en incremento en peso, con respecto al nivel de inclusión de DL-metionina.

6.2.5.2 Tasa de Crecimiento y Tasa de Crecimiento Especifico

Los resultados de la Tasa de Crecimiento (TC%) y de la Tasa de Crecimiento Especifico (TCE%), se comportan de manera similar y pasaron la prueba de normalidad, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos de 0 y 2.5 % respecto a los del 0.5 a 2.0% de inclusión de metionina, siendo los tratamientos de 0 y 2.5% de adición de metionina los que resultaron tener un crecimiento menor. La mejor tasa de crecimiento la presento la dieta control y la dieta con 1.5% de metionina (202.5 y 200% respectivamente), de igual manera en la TCE la dieta control y la dieta con 1.5% de metionina tuvieron un mejor desempeño con un 1.3% (Tabla 17).

6.2.5.3 Consumo de Alimento

El consumo del alimento en el *L. guttatus* no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$), en ninguno de sus tratamientos durante el periodo de 12 semanas. Sin embargo y no se observa una tendencia a aumentar o disminuir su consumo mientras se incrementa la cantidad de metionina en los tratamientos, esto se encuentra en la Tabla 17.

6.2.5.4 Tasa de Consumo Alimenticio

Para la Tasa de conversión alimenticia se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$), en el tratamiento de 2.5% de inclusión de metionina ligeramente, en donde el resultado fue ligeramente más elevado que en el resto de los tratamientos. La dieta con menor TCA (1.4) se presentó en la dieta con 1.0% de metionina, sin embargo, los tratamientos de 0 a 2.0% de metionina no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0.05$). Lo anterior se presenta en la Tabla 17.

6.2.5.5 Tasa de Eficiencia en el Alimento

La dieta de 2.5% tuvo un TEA menor con un valor de 58.6 % misma que fue significativamente diferente ($P < 0.05$) al resto de los tratamientos. No se observaron diferencias ($P > 0.05$) entre las dietas 0 a 2.0% ni entre los tratamientos. El valor más alto de TEA se presentó en la dieta del 1.5% de inclusión de metionina con un valor de 72.5% seguido de la dieta del 1.0% con un 69.7%, Tabla 17.

6.2.5.6 Tasa de Eficiencia Proteica

Los datos de la tasa de eficiencia proteica (TEP) se pueden observar en la Tabla 15 y Figura 20 en donde la dieta control, 0.5, 1.0 y 1.5% inclusión de metionina obtuvieron los valores más altos de tasa de eficiencia proteica. Al realizarse el análisis de varianza las dietas de 0 a 2.0% metionina no mostraron diferencias significativas, mientras que la dieta con 2.5% metionina fue diferente a todas las anteriores.

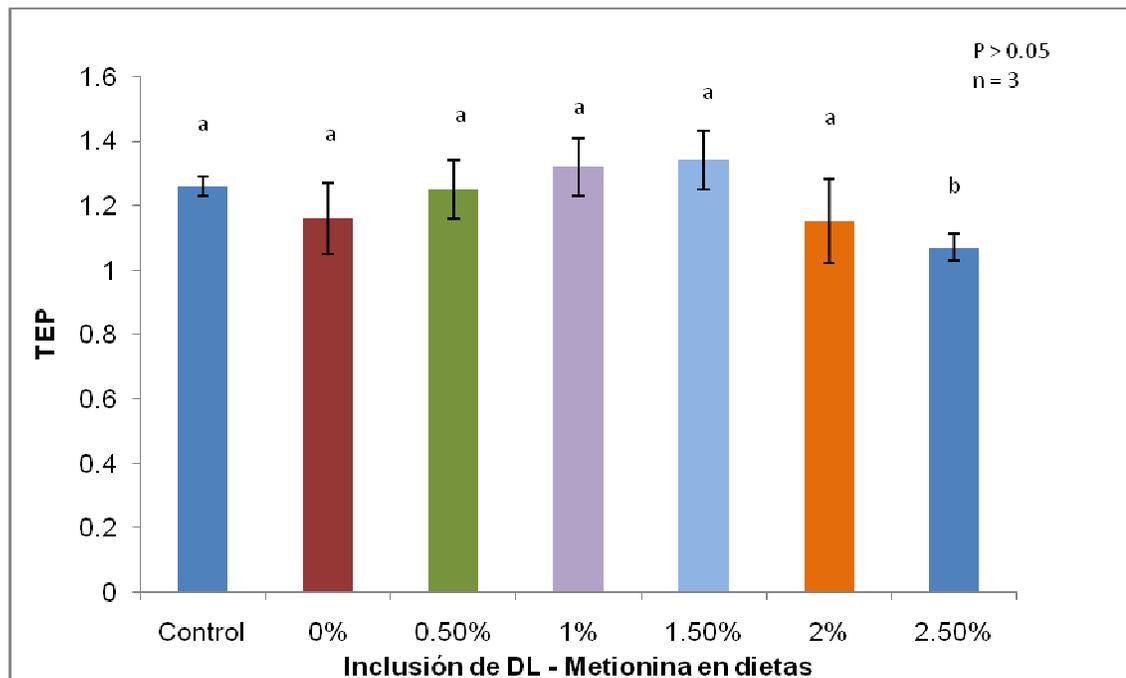


Figura 20. Tasa de eficiencia proteica en la determinación de la complementación de diferentes niveles de DL-metionina en el *L. guttatus* durante un periodo de 12 semanas.

6.2.5.7 Utilización Neta de Proteína

Las dietas que mejores resultados de UNP fueron las de 1 y 1.5% de inclusión de metionina, con valores de 21%, mientras que la de menor UNP fue la dieta de 2.5% de inclusión con una UNP de 17.2%, siendo estadísticamente diferente a las dietas mencionadas con anterioridad. Los tratamientos de la dieta control, 0, 0.5 y 2.0% de inclusión de metionina no presentaron diferencias entre sí, y se observaron valores similares entre los tratamientos de 1, 1.5 y 2.5% de inclusión (Figura 21).

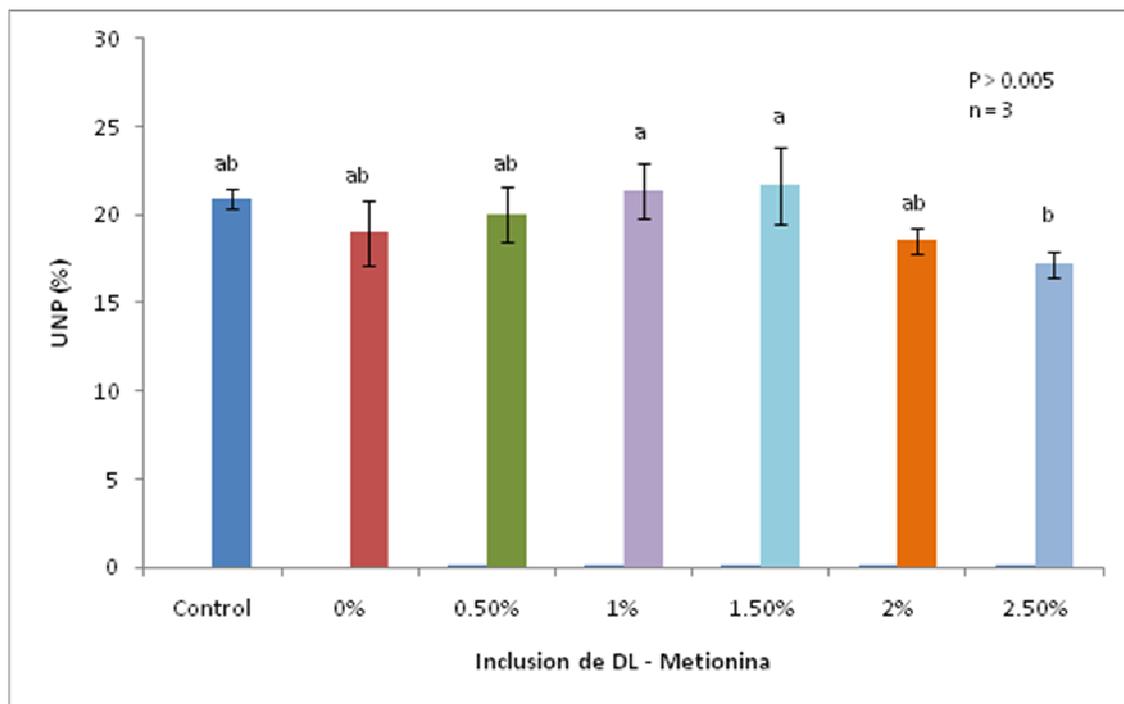


Figura 21. Utilización neta de proteína (UNP) en la determinación de inclusión de DL- metionina en el *L. guttatus*.

6.2.6 Tasa de Eficiencia Económica (TEE)

Los resultados de costo del alimento y Tasa de Eficiencia Económica se encuentran en la Tabla 18, en donde la inclusión de metionina provoca que el costo de las dietas se incremente, debido a ello el mayor costo de alimento se presentó en la dieta con una inclusión de metionina del 2.5% mientras que la de menor costo fue la dieta del 0% metionina. Respecto a la TEE esta es más elevada en la dieta 0% metionina (2932.4), que en los tratamientos de 0.5, 1.0 y 1.5%, donde a pesar de ser más caro el costo del alimento se obtuvieron mejores tasas de conversión de alimentación e incremento en peso, (2854.1, 2666.3, 26413 respectivamente) por lo que la TEE disminuye; posteriormente esta tiende a aumentar a 5171 en la dieta del 2.5% metionina.

Los resultados de regresión polinomial o cuadrática que mide el nivel de metionina respecto los resultados de Tasa de Eficiencia Económica se encuentran en la Figura 22, donde al derivar la ecuación e igualarla a 0 ($Y = 880.44 x^2 - 1430.5 x + 3110.3$), se obtiene un porcentaje de inclusión de 0.81%. Al sustituir en la ecuación la inclusión de DL- metionina de 0.81% nos da una TEE de de metionina con una tasa de TEE de 2529.25 y una $R^2 = 0.94$.

Tabla 18. Resultados de Costo del alimento y Tasa de Eficiencia económica (TEE) en el experimento de sustitución de HP por CPS.

Niveles de DL - Metionina	Costo del alimento (\$/kg)	TEE
0%	60.2	2932.4
0.5%	65.5	2854.1
1.0%	71.1	2666.3
1.5%	76.6	2641.3
2.0%	82.1	3663.3
2.5%	87.6	5171.2

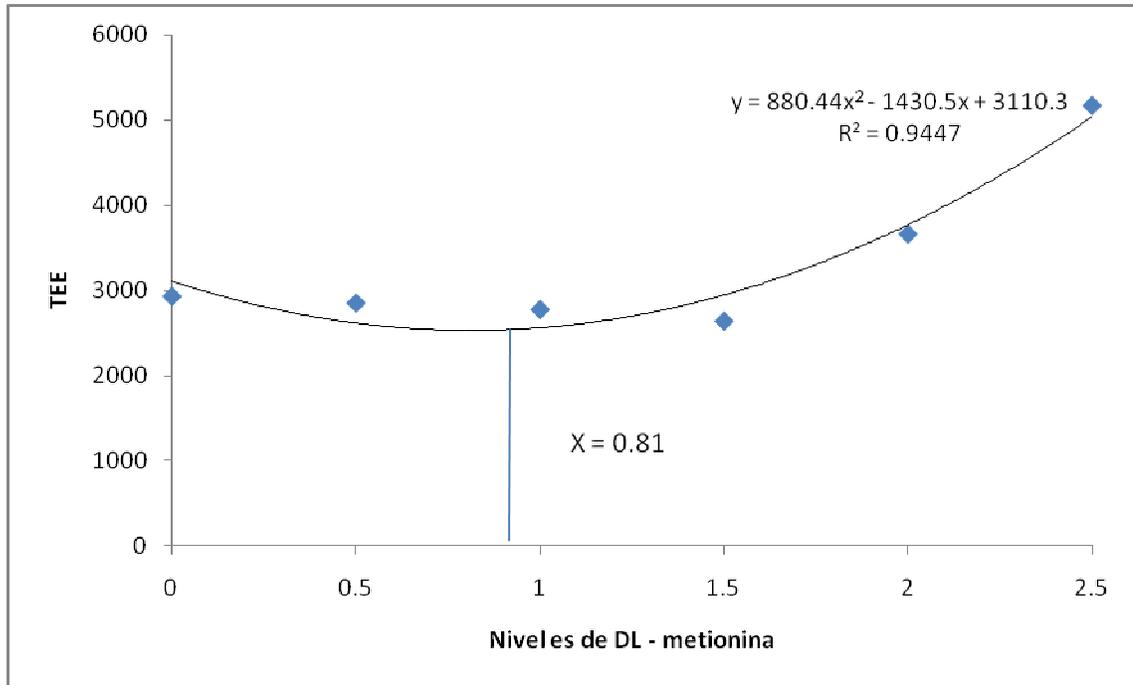


Figura 22. Análisis de regresión polinomial de segundo orden que relaciona la Tasa de Eficiencia Económica, con respecto al nivel de inclusión de DL-metionina.

7. DISCUSIONES

7.1. Experimento 1

7.1.1. Análisis proximal, Perfil de Aminoácidos de Dietas Experimentales y de Filete de Pescado.

El porcentaje de proteína fue similar al formulado inicial entre las dietas y se encuentra dentro de los requerimientos para la especie descritos por García-Ortega *et al.*, (2004) y Hernández, (2007). El contenido de lípidos también presentó un porcentaje similar al formulado inicialmente, aunque tuvo una ligera disminución en las dietas del 50 y 100% de sustitución de HP por CPS. Para estos resultados no se considera que estas variaciones puedan haber influido en el crecimiento del *L. guttatus* ya que se encuentran dentro del rango de requerimiento de lípidos (9 a 15%), para la especie (Hernández 2007; García-Ortega, 2009).

Los resultados de humedad presentan variaciones entre las dietas en un rango entre el 4.8 y 9.9%, las diferencias no fueron significativas entre las dietas de 10, 20, 30 y 100% de reemplazo. El contenido de cenizas tendió a disminuir conforme se aumentaba el reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya. Esto se debe a que el concentrado de proteína de soya tiene menor contenido de cenizas que la harina de pescado, ya que esta última se elabora a partir de pescado entero, como: sardina y arenque o mediante los restos de la industria pesquera del atún, camarón, jaiba y calamar. Por ello, la harina de pescado en su composición presentará una mayor cantidad de cenizas por a la presencia de escamas y huesos.

Este mismo comportamiento se han presentado en varios trabajos donde se evalúa el concentrado de proteína de soya como reemplazo de la harina de pescado en formulaciones de dietas para peces (Day y Plascencia, 2000; Catacutan y Pagador 2004; Zhou *et al.*, 2005; Deng *at el.*, 2006; Villa-López y García-Ortega, 2008).

Para el perfil de aminoácidos de las dietas experimentales el aumentó en el reemplazo de harina de pescado afectó principalmente la concentración de metionina ya que esta tendió a disminuir considerablemente en la sustitución del 50 y 100% de harina de pescado. Este aminoácido es clasificado como esencial y su deficiencia afecta el crecimiento en los peces en acuicultura.

En especies como el botete diana (*S. annulatus*), el reemplazo total de harina de pescado por CPS se obtuvo una concentración de 0.31 de metionina en la dieta, mientras que en la dieta de 0% de reemplazo fue de 1.01 en formulaciones con 55% de proteína (Villa - López, 2009).

La metionina y la lisina se encuentran limitados en los concentrados de proteína de soya y tendencias como las presentadas en este experimento han sido descritas en peces como la dorada, el lenguado japonés, cobia, trucha arcoíris y el mero de pintas naranjas. Además en la mayoría de estos trabajos la inclusión de estos aminoácidos han provocado un efecto favorable de crecimiento en los peces (Lou *et al.*, 2005; Chou *et al.*, 2004; Day y Plascencia, 2000).

Los resultados de perfil de amino ácidos en filetes del *L. guttatus* se presentan en la Tabla 9, los cuales se comportan de manera similar a los presentados en las dietas en donde la metionina se encuentra limitada en la dieta del 100% de CPS. Lo anterior concuerda con los presentados en la dorada (*S. aurata*) en donde examinaron el perfil de aminoácidos en el cuerpo del pez, en el sustituyen la harina de pescado con proteínas de origen vegetal con concentrado de chícharo, arroz y trigo en niveles de 30, 60 y 90% (Sánchez-Lozano *et al.*, 2009). Ellos al igual que en este trabajo determinaron el perfil de aminoácidos en los filetes de los peces en el cual la metionina se encuentra a

0.52 % proteína en los peces del 0% de sustitución o dieta control, mientras que en la dieta del 90% esta tiende a disminuir hasta el 0.37%. Con respecto a la lisina esta tiende a aumentar su concentración conforme aumentan las sustituciones ya que en la dieta control se presentan valores de 1.21% bs mientras que al 90% de sustituciones aumenta al 1.46% bs. Para este experimento se encontraron valores de metionina de 0.10 % (base seca) en la dieta del 50% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya en filetes de peces y disminuye a 0.08% (base seca) en la dieta del 100% de sustitución. Según Muzinic *et al.*, (2006) con la perca (*Morone chrysops X Morone saxalitis*) no encontraron diferencias en los niveles de metionina utilizando harina de soya y pavo para sustituir a la harina de pescado, sin embargo esto se puede deber a que la harina de pavo puede no ser deficiente en metionina.

Existen pocos trabajos en los que se analice la retención o deposición de aminoácidos en el músculo sin embargo Cowey y Luquet, (1983) mencionan que la composición de aminoácidos en el cuerpo de los peces y lo recomendado en la dieta debe ser similar. También indican que ya que en el músculo contiene tejido a base de proteína, su composición puede dictar los requerimientos de estos. Lo anterior concuerda con la dieta que mejores resultados tuvo en crecimiento, ingesta del alimento, retención neta de proteína que fue la del 40% de sustitución, esta tiene un contenido de metionina en el músculo de 0.97% (base seca), lisina 2.81%, por lo que es posible que el requerimiento de estos aminoácidos en esta especie se encuentren dentro de los niveles encontrados en esta dieta.

7.1.2. Crecimiento

Los resultados de crecimiento obtenidos en este trabajo muestran un potencial en el uso de concentrado de proteína de soya como fuente de proteína vegetal para la disminución en la utilización de harina de pescado en la formulación de dietas para la engorda de juveniles de pargo lunarejo *L. gutattus*. Los resultados obtenidos en otras especies son contradictorios respecto al porcentaje de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya sin que este cause disminuciones en el crecimiento.

Day y Plascencia, (2000), observaron en juveniles de rodabalo *S. maximus*, de 13.52 g que el crecimiento presentó diferencias significativas a un nivel de sustitución de harina de pescado del 50%, mientras que en el lenguado japonés *P. olivaceous*, las diferencias se observó al 25% de sustitución (Deng *et al.*, 2006). En otro trabajo realizado con el botete diana *S. annulatus* con organismos de 56.7 g no se encontraron diferencias significativas en crecimiento al 20 y 30% de reemplazo de concentrado de proteína de soya por harina de pescado (Villa-López, 2009).

Resultados favorables con niveles de sustitución entre el 25 y el 45% se han reportado en diferentes especies para peces marinos, en algunos experimentos este nivel de sustitución se ha podido aumentar al suplementar en la dieta aminoácidos deficientes en los ingredientes de origen vegetal, como la metionina, lisina o taurina (Day y Plascencia 2000; Deng *et al.*, 2006; Chatzifotis *et al.*, 2008; Takagui *et al.*, 2008; Villa-López, 2009).

En el lenguado japonés *P. olivaceous* donde se adiciona a la dieta aminoácidos esenciales como metionina, lisina, treonina y valina el reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya no muestra diferencias significativas en el crecimiento entre el 25% y el 75% de sustitución (Deng *et al.*, 2006).

Así mismo, un crecimiento se encontró en la cobia al utilizar CPS como reemplazo para la harina de pescado, además de una mezcla de aminoácidos esenciales, sustituciones del 50 y 75% no presentaron diferencias significativas en peso ganado ni tasa específica de crecimiento, indicando que con la combinación de ingredientes se puede llegar a minimizar la utilización de harina de pescado como fuente de proteína para la formulación de dietas en acuicultura (Salze *et al.*, 2010).

En este experimento no hubo diferencias significativas de crecimiento del 0 al 50% de sustitución, aun que el mayor crecimiento se presentó al 40% de reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, estos resultados coinciden con los reportados por los trabajos anteriores para peces marinos.

Sin embargo los resultados de la regresión polinomial que relacionan la ganancia en peso del pez con respecto al nivel de reemplazo de harina de pescado por concentrado de soya indica un crecimiento óptimo al 27.2%. Este mismo método fue utilizado con el botete diana *S. annulatus* y cobia *R. canadumen* donde se obtienen respuestas favorables de crecimiento hasta en un 30% y 40% de sustitución respectivamente, sin embargo con el método de regresión polinomial se tiene un reemplazo óptimo al 10.8% para el botete diana y 18.9% para la cobia (Zhou *et al.*, 2005 y García *et al.*, 2009)

Los datos de TCE resultaron en 2.2-1.9% para la dieta control y el 100% de sustitución respectivamente; estos fueron elevados en comparación con los obtenidos por Osuna-Duran, (2009) con la misma especie, donde se obtienen TCE de 2.00 a 1.60. Lo anterior probablemente se deba a que en ese trabajo el régimen de alimentación de los peces fue de 3 veces al día, mientras que en el presente trabajo fue de solamente 2. Por lo que el aprovechamiento del alimento se utilizó de mejor manera para crecimiento.

Los resultados anteriores concuerdan con los reportados por Kissil *et al.*, (2000) con la dorada *S. aurata* en donde la TCE resulto en valores de 2.51 a 1.98% y esta disminuye conforme aumenta el nivel del CPS en la dieta.

7.1.3. Consumo del alimento, Tasa de Conversión Alimenticia y Tasa de Eficiencia en el Alimento.

En este estudio el consumo del alimento es más alto en la dieta de referencia y tiende a disminuir a partir del 50% de sustitución de harina de pescado por CPS y concuerda con lo reportado por Day y Plascencia, 2000; Deng *et al.*, 2006; Villa-López., 2009. Lo anterior se ve reflejado en la TCA ya que esta tiende a aumentar significativamente al 100% de sustitución, esto muestra un claro reflejo de la falta de la atractabilidad de la dieta y una disminución de aminoácidos (Day y Plascencia, 2000; Kissil *et al.*, 2000; Zhou *et al.*, 2005; Martínez – Llorenz *et al.*, 2008).

El mejor resultado de TCA se obtuvieron en las dietas con el 40 y 50% de reemplazo (1.07 y 1.06 respectivamente). Los resultados se mostraron menores que los obtenidos por Hernández *et al.*, 2004 y Osuna-Duran, (2009) en donde las TCA se encuentran en un rango de 4.2 y 1.8 para organismos de una talla similar a la utilizada en este experimento y utilizando como fuente principal la harina de pescado, harina de calamar y harina de camarón. Por lo que la obtención de tasas de conversión alimenticia menores en este experimento se atribuyen a que la ración de alimentación para este experimento fue de 2 veces al día por lo que se mejoró la eficiencia en el alimento.

Lo anterior se ve reflejado en el trabajo elaborado por Sánchez-Garayzar, (2009) en donde se prueban frecuencias de alimentación en juveniles de pargo lunarejo con un peso inicial de 8 g, donde las tasas de conversión alimenticia disminuyen cercanas a 1 en frecuencias de alimentación de 2 veces al día y esta aumenta al alimentar 3 y 4 veces al día.

7.1.4. Tasa de Eficiencia Proteica y Utilización Neta de Proteína

Los valores de tasa de eficiencia proteica (TEP) y UNP se encontraron en valores de 1.8 a 2.0 y 33 a 39, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los reportados en la cobia (*R. canadum*) con una TEA de 1.3 a 1.60 utilizando soya desgrasada para sustituir la harina de pescado 0-60% (Zhou *et al.*, 2005). Otro resultado similar fue el presentado en el lenguado japonés alimentado con concentrado de proteína de soya y complementación aminoácidos esenciales (metionina, lisina y leucina) en la dietas en donde se obtuvieron valores de 0.81-1.43 (Deng *et al.*, 2006).

El experimento realizado por Mambrini *et al.*, (1999) con la trucha arcoíris encontró una TEP de 2.18 a 2.55 en sustituciones del 0 a 75% respectivamente. En donde la tendencia al igual que en este trabajo es que la tasa de eficiencia proteica disminuye conforme aumenta el CPS de en la dieta. Según Day y Plascencia, (2000), esto se debe a que en lugar de que la proporción de proteína en la dieta sea usada para la síntesis de proteína, esta es utilizada para la producción de energía para mantenimiento del organismo y que aumentará conforme lo haga el nivel del reemplazo de la proteína. Además Zhou *et al.*, (2005) sugieren que esto es ocasionado por la disminución en la ingesta del alimento, la digestibilidad, nitrógeno y energía aportadas por la proteína soya las cuales son menores que en la harina de pescado.

El tratamiento que presentó deficiencia en el crecimiento, tasa de eficiencia en el alimento y tasa de retención proteica fueron en los que se reemplazó totalmente la harina de pescado, por lo tanto estos peces al ingerir menores cantidades de alimento utilizaron el contenido de proteína para mantenimiento y no para síntesis de proteína.

Los resultados de utilización neta de proteína de este experimento coinciden con los obtenidos por los presentados por Tantikitti *et al.*, (2005); en este experimento utilizaron harina de soya desgrasada como sustitución parcial de la

harina de pescado para la lubina asiática (*L. calcarifer*) en niveles del 0-50% de reemplazo. Los valores de UNP en este experimento fueron de 47.67 a 32.62% en dieta control y 50% de reemplazo respectivamente. Los mejores resultados se obtuvieron en la dieta control y al 10% de sustitución para posteriormente ir disminuyendo. Así, mismo se presentan en la cobia (*R. canadum*) en sustituciones del 60% de harina de pescado por harina de soya, donde la retención neta de proteína fue menor que en la dieta del 20% de sustitución que incluso obtuvo un mejor resultado que la dieta control (Chou *et al.*, 2004). Lo mismo sucede con el botete diana y la dorada en donde los mejores valores de UNP se obtuvieron en las dietas del 20 y 12% de sustitución respectivamente, mientras que sustituciones mayores este tendió a ser menor (Sánchez-Lozano *et al.*, 2007; Villa-López, 2009).

Ya que este índice se refiere a la calidad de la proteína en la dieta, ya que cuantifica los aminoácidos que son convertidos a proteína, la disminución de este parámetro en las dietas sugiere la deficiencia de uno o más aminoácidos esenciales para la síntesis de proteína y retención de nitrógeno en el pez, en el caso de este experimento el mejor resultado fue obtenido con la dieta de 40% de reemplazo de harina de pescado por CPS. Así mismo en este experimento se presentó deficiencia en metionina al 50 y 100% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya el cual es determinante en el crecimiento de los peces.

7.1.4. Tasa de Eficiencia Económica

El objeto final de este experimento es la formulación de dietas que mejoren o mantengan las tasas de crecimiento del *L. guttatus* prescindiendo de la utilización parcial de harina de pescado como ingrediente principal en la composición proteica de las dietas. Además se sabe que los componentes proteicos y grasos son los ingredientes más caros en la formulación de dietas, por ello se realizó un análisis económico de las mismas en donde se relacionaron los datos de crecimiento, conversión del alimento y costo del mismo. Estos resultados se encuentran descritos en la Tabla 11 y Figura 18, en donde con los resultados de regresión cuadrática se obtiene que a una inclusión óptima de CPS del 21.5%, una TEE de 1983.56 a un costo de 80 pesos m.n. por kilogramo de alimento. Es decir este es el punto en donde la inclusión de CPS a pesar de tener un costo más elevado que el de la harina de pescado, se obtiene una TEE menor que la dieta control debido a que se obtienen mayores tasas de crecimiento en el *L. guttatus*.

Existen pocos trabajos en donde se reporte este índice de eficiencia económica e incluso donde analicen aspectos nutricionales relacionados con la economía, esto a pesar de que para una granja acuícola su principal preocupación es la obtención de una mejor relación de costo beneficio, la cual en su mayoría son por parte de la alimentación, considerando un óptimo manejo.

Un trabajo similar se realizó en este experimento fué en la dorada *S. aurata* (Martinez-Llorens et al., 2007). Este trabajo reporta utilización de harina de soya, gluten y trigo para sustituir la harina de pescado al 20, 30, 40 y 60%. Se hizo un análisis económico para determinar el costo de las dietas, siendo más elevado la TEE de la dieta con el 20% de sustitución que el del 60%, esto debido a que los ingredientes que utilizaron son más baratos que la harina de pescado, contrario a lo que sucedido en este experimento. Sin embargo al obtener la TEE y ajustarlo a una regresión polinomial, procedieron a derivar e igualar la ecuación a 0, se obtuvo un nivel de 21%, mientras que la sustitución

optima de harina de pescado en la dorada por ingredientes vegetales tomando solo en cuenta las tasas de crecimiento fue de 30%.

En otro experimento también con la dorada (Sánchez-Lozano *et al.*, 2007), usaron harina de girasol para la sustitución de harina de pescado al 12, 24 y 36%, en el cual obtuvieron una tasa de eficiencia económica del 15.4% al relacionarla con la ingesta de alimento, mientras que la dieta del 12% de sustitución presentó diferencias en crecimiento del pez comparado con la dieta control. Es decir que aunque la dieta disminuía su costo al incrementar el nivel de sustitución esta no se considero económicamente eficiente ya que afectaba tanto el crecimiento como la ingesta del alimento del pez.

Lo mismo sucede para este experimento cuando se toma en cuenta los niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, los cuales se relacionan a los resultados de incremento en peso: se obtiene una sustitución optima del 27.4%, mientras que tomando en cuenta la conversión del alimento, el costo y la TEE esta disminuye al 21.5%.

Por otro parte en la Tabla 10 se observan, los resultados de crecimiento de los peces bajo todos los tratamientos, no se encontraron diferencias significativa del 20, 30 y 40% de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya, por lo que una inclusión del 21.5% no afectara las tasas de crecimiento.

Experimento 2

7.1.5. Análisis Proximal y Perfil de Aminoácidos de las Dietas

El porcentaje de proteína en las dietas tuvo una tendencia similar a la del experimento 1, ya que presentó ligeras variaciones entre sus tratamientos. Sin embargo, se encuentra dentro de los requerimientos escritos para esta especie (Hernández *et al.*, 2007). El contenido de lípidos también tuvo diferencias entre sus tratamientos teniendo disminuciones en la dieta del 0% inclusión de metionina, sin embargo estos cambios no se consideran como determinantes para afectar el crecimiento de los peces durante el experimento.

La humedad de igual manera que en el experimento anterior presenta variaciones, las cuales se encuentran en un rango de 5.7 a 10% de humedad, mientras que el contenido de cenizas solo tiene mayor concentración y por ende diferencias con el resto de los tratamientos la dieta control con un contenido de 13.2% mientras que el resto de los tratamientos 9.5% aproximadamente. Lo anterior se debe a que la dieta control esta formulada a base de harina de pescado, mientras que el resto de los tratamientos contiene concentrado de harina de soya en un 50 % disminuyendo así la concentración de cenizas en los tratamientos.

Las variaciones anteriores concuerdan con otras formulaciones de dietas en donde utilizan proteínas de origen vegetal e inclusiones de metionina para evaluar su efecto en el crecimiento de los peces (Berge *et al.*, 1999; Luo *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2008).

En cuanto al perfil de aminoácidos de las dietas del experimento para determinar la inclusión óptima de metionina, se puede observar que tanto la metionina como la cisteína aumentan conforme se incrementa el nivel de inclusión en las dietas. Los rangos van de 0.24 (% base seca) de metionina más 1.03% de cisteína para la dieta control, para posteriormente encontrarse en un

rango de metionina de 0.22% a 2.44% para concentraciones de cisteína de 0.95-1.73% en todas las demás dietas. Es posible que para las dietas con los niveles de inclusión que fueron la de 2.0% y 2.5% afectaran el crecimiento y la utilización de metionina en la síntesis de proteína debido a sus altas concentraciones (Mai *et al.*, 2006), además de que los niveles de cisteína fueron más elevados que los encontrados en el rango de los tratamientos de 1–1.5 % de inclusión (0.49+1.45 y 0.76+1.07 metionina y cisteína respectivamente), que fueron las dietas que mejores resultados de crecimiento presentaron.

Lo anterior se ha descrito para especies como, el lenguado japonés, la curvina japonesa, el mero de pintas naranjas, el cola amarilla, la dorada, salmón del Atlántico, en donde la concentración de metionina en la dieta aumenta conforme lo hace la inclusión de metionina sin embargo no reportan el porcentaje de lixiviación que esta presenta al entrar en contacto con el agua (Ruchimat *et al.*, 1997; Luo *et al.*, 2005; Espe *et al.*, 2006; Mai *et al.*, 2006; Sánchez-Lozano *et al.*, 2009).

Los resultados de aminoácidos en el músculo de los peces realizado en este experimento tienen una tendencia similar a los de las dietas experimentales, es decir, la deposición de metionina y cisteína en el músculo aumenta a medida que se incrementa la inclusión de metionina en los tratamientos.

Los rangos de deposición de metionina en el músculo fueron de 1.39 a 1.91% para la dieta control y 1.5% de inclusión de metionina respectivamente. En los tratamientos donde la inclusión de metionina se encontró en exceso (2.0 y 2.5%) se presentó una disminución en la deposición de metionina en el músculo ya que fueron menores a los de la dieta del 1.5% teniendo una concentración de 1.39 para 2.0% de metionina y 0.96% base seca para 2.5% de metionina en la dieta. Lo anterior se puede deber a que la metionina se encontraba en exceso y que no haya participado en la síntesis de proteína, por lo que es posible que se haya oxidado a cuerpos cetónicos (Murthy y Varguese, 1998).

La dieta con el 1.5% de inclusión de metionina tuvo una ligera disminución de deposición de metionina y serina en tejido muscular de los peces en comparación con la dieta del 0.5%, sin embargo presenta mayor cantidad de cisteína que el resto de los tratamientos, por lo que se presume que esta disminución de metionina, así como el aumento tan elevado de cisteína es porque se está utilizando la metionina y la serina, para los patrones de transulfuración en la síntesis de cistationina, la cual al desprenderse una molécula de NH_3 , forma cisteína (Figura 4).

Los resultados de totalidad de aminoácidos en el músculo tienden a aumentar conforme lo hace la inclusión de metionina en los tratamientos, lo cual se puede deber a que en el metabolismo de la metionina participan otros aminoácidos como la serina y la glicina, que también incrementaron con forme se adicionó la metionina a las dietas. Sin embargo en el punto donde la metionina se encuentra en exceso (2.0% de inclusión) se presenta una disminución para ambos aminoácidos. De acuerdo a Sánchez-Lozano et al., (2009), esto se puede deber a que los aminoácidos no están siendo absorbidos correctamente por el organismo.

Hay muy pocos trabajos en los que se analiza la deposición de aminoácidos en el músculo y en los estudios en los que se determina el requerimiento de metionina y cisteína no se realizó el perfil de aminoácidos en el pez, ya que por lo regular hacen la cuantificación en sangre o en el hígado.

7.1.6. Crecimiento y Tasa Especifica de Crecimiento

En diversos trabajos en donde se cuantifica el requerimiento de metionina se han presentados dos tendencias de crecimiento al incrementar la cantidad de metionina en la dieta. En la primera, el crecimiento aumenta al incrementar la metionina y este se mantiene constante cuando el contenido de metionina es

mayor al requerido; la segunda, el crecimiento incrementa con forme lo hace la inclusión de metionina en la dieta y tiende a disminuir cuando el requerimiento de metionina se encuentra en exceso. Esto se puede deber a un efecto tóxico de la metionina en la dieta por la acumulación y oxidación de esta a cetonas que pueden afectar la utilización y absorción de otros aminoácidos probando un desequilibrio de los mismo y afectando así el crecimiento (Mei *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2007).

En el presente trabajo los resultados de crecimiento en los peces tienden a aumentar conforme lo hace la inclusión de metionina en la dieta, llegando a tener resultados similares a los de la dieta control, sin embargo, tiende a disminuir al alcanzar el requerimiento máximo de metionina para los organismos el cual fue a partir de la dieta de 2.0% base seca o 20 g/ kg de metionina en la dieta). La tendencia indica que el requerimiento óptimo de metionina es de 1.5% (g/100) para tener resultados similares a los de una dieta con 100% de harina de pescado.

El requerimiento de metionina parece ser más elevado para el lenguado japonés con organismos de 2.8 g para esta especie se utilizaron inclusiones de metionina de 0.53 a 2.03% en la dieta y encontraron un crecimiento máximo al 1.74% de metionina en la dieta o 3.46% de proteína (Alam *et al.*, 2000).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos con el mero de pintas naranjas *E. coioides* con juveniles de 13.3 g, en donde la mayor tasa de crecimiento se observó al 1.4% de metionina en la dieta (Zhou *et al.*, 2005), otro resultado fue el observado en el pez roca *S. schlegeli* con un peso inicial de 43 g donde al 1.58% de inclusión de metionina en la dieta se obtuvo el mayor crecimiento del pez alcanzando un peso de 87 g y este disminuye a partir del 2.08% con un peso final de 77 g (Yan *et al.*, 2007).

En los experimentos descritos anteriormente los peces parecen aceptar y absorber de manera eficiente la metionina que es incluida en las dietas. Sin embargo en el experimento realizado con el rodaballo *S. maximus*, se reemplaza

la harina de pescado con concentrado de proteína de soya al igual que en este experimento, además se incluye metionina, sin embargo esta no mejoró el crecimiento del rodaballo, por lo que concluyen que es posible que el pez no haya absorbido de manera eficiente este aminoácido (Day y Plascencia, 2000). Otros autores indican que deficiencias en la utilización de la metionina se puede deber a la especie, edad, tipo de dieta, ingrediente y condiciones ambientales (Cowey, 1994; Alam *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2009).

Para este trabajo los resultados de regresión polinomial indican que la inclusión optima de metionina se encuentra al 1.16% en la dieta (11.6 g/kg) o 2.47% de proteína, en presencia de 1.26% de cisteína base seca y 2.59% de proteína aproximadamente, mismos que concuerdan con los encontrados en la curvina japonesa con una inclusión optima del 1.44% de metionina y 0.29% cisteína en la dieta (Mai *et al.*, 2006). A si mismo ejemplos como el anterior se encuentran en el pez roca en donde la ingesta optima de metionina es de 1.37% cuando la presencia de cisteína es de 1.2% (Yan *et al.*, 2007)

Otro trabajo donde se estima la inclusión optima de metionina con una regresión cuadrática es el reportado por Alam *et al.*, (2000) con el lenguado japonés teniendo resultados de 1.49% con una concentración de 0.06% de cisteína. Sin embargo los resultados que más se acercan a los obtenidos por este experimento son los encontrados por el cola amarilla (*S. quinquerediata*) donde obtienen cuantificación de metionina del 1.11% de dieta o 2.52% del porcentaje de proteína en dieta.

Sin embargo Wilson y Halver, (1986) indican que los peces tiene un requerimiento de aminoácidos sulfurado, más que de metionina por sí sola (Mai *et al.*, 2006). Por lo que en este estudio el requerimiento de aminoácidos sulfurado sería de 3.54% de proteína en la dieta y de 1.83% base seca.

Respecto a la tasa de crecimiento especifica (TCE%), esta fue menor (2.35-1.88 y 1.32 a 1.05 para el primero y el segundo experimento respectivamente), esto se puede deber debido a los cambios de temperatura que se presentaron

en el experimento 2 durante las primeras 3 semanas del experimento. Sin embargo estos resultados encontrados en el experimento 2 concuerdan a los obtenidos con el pez roca al obtener una TCE% de 1.07 con una inclusión de metionina de 1.58% en la dieta en peces de 40 g aproximadamente.

Tasas de de crecimiento específico mayores de 3.95% se encontraron con la curvina japonesa en peces de 1.3 g con una inclusión de metionina de 1.44% y esta tiende a disminuir conforme se incrementa la metionina en la dieta, de igual manera para el lenguado japonés se observó una TEC de 3.72% en una ingesta de metionina de 1.42% (Mai *et al.*, 2006; Alam *et al.*, 2000).

7.1.7. Tasa de Conversión Alimenticia, Eficiencia en el Alimento

Los resultados de consumo de alimento fueron menores al de sustituciones de harina de pescado por CPS del presente trabajo, esto se debe probablemente a la disminución de la temperatura que se presentó al inicio del segundo experimento (21.2°C), mientras que en el primer experimento la menor temperatura se presentó a los 24°C. Por lo que durante las 3 primeras semanas se presentó una reducción en el apetito de los peces. Sin embargo, los resultados de ingesta en el alimento y TCA son similares a los reportados por Yan *et al.*, (2007) con el pez roca, donde la tendencia de la TCA es a aumentar en la dieta con 0% metionina (1.43) y esta disminuye a una TCA de 1.17, cuando la inclusión de metionina es de 1.58% para un mayor crecimiento para posteriormente aumentar cuando existe un exceso de metionina en la dieta.

Lo mismo ocurre en este experimento la TCA se mantiene estable en todos los tratamientos, es decir no presenta diferencias significativas sin embargo en la dieta del 2.5% esta aumenta a TCA de 1.71. Lo anterior se vio reflejado en la Tasa de Eficiencia en el Alimento ya que esta tiende a ser mejor en la dieta del 1.5% de inclusión de metionina y disminuye en un 14% de eficiencia en la dieta del 2.5% de metionina en la dieta.

En el trabajo de Alam *et al.*, (2000) se encuentra una tendencia similar a la presentada en este experimento ya que la TEA tiende a ir incrementándose conforme aumentan los niveles de metionina en las dietas, sin embargo debido a que en este experimento no se presentó disminución en el crecimiento al adicionar metionina, se presume que no se alcanzó el punto máximo en el que el exceso de metionina provocaba un efecto tóxico en el organismo. Lo mismo ocurre con el cola amarilla (*S. quinquerediata*) ya que presentan unas tasas de crecimiento de 86% con una inclusión de metionina del 1.38 en la dieta. En este experimento las TEA se encontraron en niveles del 70 al 58%.

Debido a que en el presente experimento no se encontraron diferencias estadísticas en la ingesta del alimento se puede inferir que la disminución de crecimiento en los peces con mayor ingesta del alimento no se debió a una pobre palatabilidad, ya que su ingesta fue similar para todos los tratamientos y este aminoácido no provoca un incremento en la ingesta del alimento en esta especie.

7.1.8. Tasa de Eficiencia Proteica y Utilización Neta de Proteína

Los valores de TEP se encontraron en un rango de 1.3 a 1.1%, en donde al aumentar la ingesta de metionina tienden a disminuir; estos resultados son menores a los reportados para el cola amarilla (*S. quinquerediata*), para determinar el requerimiento de metionina en dietas con concentrado de proteína de soya, en este experimento se reportan valores de 0.29 para la dieta con 0% metionina y hasta un 2.0 en una inclusión del 1.38% (Ruchimat *et al.*, 1997).

Para el mero de pintas naranjas (*E. coioides*) donde también determinaron el requerimiento de metionina a un nivel constante de concentrado de proteína de soya en sustitución de la harina de pescado, se reportan valores de TEP en un rango de 0.63 a 1.61% (Zhou *et al.*, 2005). En los trabajos mencionados anteriormente, ninguno mostró disminución de TEP conforme aumentaba la

inclusión de metionina, debido a que no se encontró el punto máximo donde la ingesta de esta producía un efecto tóxico que afectara el crecimiento. Contrario al estudio anterior en otro experimento con la curvina japonés, encontraron un TEP de 5.05 a una inclusión de metionina de 1.41% mientras que esta disminuyó a 3.05 para un contenido de metionina de 1.89%, esto se puede deber a que como los compuestos nitrogenados no estaban siendo retenidos por el pez, debido al exceso de aminoácidos presentes en la dieta (Mai *et al.*, 2006).

Por otro lado en un estudio con la dorada (*S. aurata*) se obtuvieron TEP de 1.20 a con una inclusión de metionina de 2.0% en dietas con el 60 % de sustitución de harina de pescado por proteínas de origen vegetal (Sánchez-Lozano *et al.*, 2009). A si mismo otro ejemplo de sustitución de harina de pescado por proteínas de origen vegetal mas la adición de metionina para mejorar el crecimiento en los peces y un adecuado balance de aminoácidos es el realizado por Sardar *et al.*, (2009), con la carpa mayor de la india (*L. rohita*), donde se obtiene una TEP de 1.4 con una inclusión de metionina de 1.16% o de 1.77 metionina + cisteína.

Los resultados para el pargo lunarejo de UNP se encuentran en un rango de 17 a 22%, en donde al aumentar la inclusión de metionina en las dietas la UNP tiene a incrementar, para posteriormente volver a disminuir. Esos resultados concuerdan con los presentados en el pez roca, donde la UNP de encuentra en rangos de 18 a 30%. El valor de 30% de UNP le corresponde a la dieta con una inclusión de metionina de 1.58%, mientras que a la adición de 3.08% obtuvo un valor de 20% en utilización neta de proteína (Yan Q. *et al.*, 2007).

Por otro lado en un experimento realizado con el bagre de canal (*I. punctatus*), se presentó una tendencia similar a la del trabajo realizado con el pez roca, ya que al incrementar los niveles de metionina en la dieta que fueron de 0.35 a 1.5%, los niveles de UNP incrementaron de 33 a 38%, en las dietas de con los niveles más bajos de inclusión de metionina (0.35 y 0.55%) así como en la dieta con el nivel más alto (15.5%) la UNP fue menor (Cai y Burtle, 2009). Valores

similares a los de este experimento son los obtenidos en el lenguado japonés, que presenta una UNP de 25.77% en inclusiones de metionina del 2.0% (Alam, 2000).

El cola amarilla presenta valores de UNP de 40.8% con una complementación de metionina en las dietas de un 1.2%, mientras que a niveles de 0.77% de metionina tiene una UNP de 33% y así como en niveles mayores de metionina (1.58), el porcentaje de utilización de proteína disminuye. La tendencia de los experimentos mencionados con anterioridad coincide en que al incrementar el nivel de metionina en la dieta la retención y utilización de proteína aumenta Rutchman *et al.*, (1997) mencionan que esto se debe a que elevan la síntesis de proteína con el incremento de metionina en las dietas. La disminución de este al haber metionina en exceso, indica que esta ya no está siendo catabolizada por el organismo y es probable que se encuentre un exceso de nitrógeno en las heces de los peces, aunque debido a que en este trabajo no se recolectaron las heces para realizar una composición proximal, es algo que no puede ser verificado.

7.1.9. Tasa de Eficiencia Económica

Debido a que se utilizó DL-metionina en las dietas, que al igual que el concentrado de proteína de soya son ingredientes caros, si se comparan con la harina de pescado esto provocó que el costo de las dietas se incremente.

Contrario a los resultados del experimento 1, en donde la inclusión de CPS al 21.5% tiene una tasa de eficiencia económica adecuada y que este además no afecta el crecimiento de los peces, esto no se comporta así para este experimento, ya que se obtuvo una inclusión de DL-metionina del 0.81% para obtener una tasa de eficiencia económica adecuada y de acuerdo a los resultados presentados en este trabajo a este nivel de metionina si afecta el crecimiento de los peces, ya que el nivel optimo de metionina para el *L. gutattus* en dietas con una sustitución del 50% de harina de pescado por concentrado de proteína de soya se encuentra al 1.16% en la dieta.

Sin embargo aunque los resultados de eficiencia económica no son favorables, el objetivo de este trabajo es evitar la utilización de harina de pescado para la formulación de dietas acuícolas, por lo que se pudiera plantear para futuros trabajos de investigación que al incluir en las dietas otras fuentes de origen vegetal de menor costo, que sustituyan el otro 50% de harina de pescado, al menos parcialmente, estas tasas de eficiencia económica podrían cambiar.

Según la Asociación Internacional de Harina y Aceite de pescado (The International Fishmeal and Fish Oil Association), estos ingredientes incrementaron su precio hasta un 85% a principios del 2010 debido al fenómeno del niño en Chile y del terremoto sucedido en esta región, por lo que estos precios incrementaron considerablemente (<http://www.allaboutfeed.net/news/earthquake-pushes-fishmeal-prices-to-all-time-high-4372.html>).

Lo anterior indica que la harina y aceite de pescado tiene inestabilidad tanto en disponibilidad como en precio, por lo que es probable que debido a la producción de semillas de origen vegetal que estas tiendan a mantener su precio y una mayor disponibilidad. Por otra parte Salze *et al.*, 2010 mencionan que mientras más disponible se haga la tecnología para la elaboración de concentrados proteicos de origen vegetal esta tendrá una tendencia a disminuir su precio.

8. CONCLUSIONES

8.1. Experimento 1

- Niveles de inclusión de concentrado de proteína de soya por arriba del 50% en dietas para *L. guttatus* afectan negativamente el crecimiento.
- No se presentaron diferencias de crecimiento de los peces alimentados con las dietas del 0 al 50% de inclusión de concentrado de proteína de soya, sin embargo los mejores resultados se presentaron en las dietas del 30 y 40%. Por otro lado la regresión polinomial indica un reemplazo óptimo del 27.2% de harina de pescado por concentrado de soya sin afectar el crecimiento del pez.
- El aumento en el reemplazo de harina de pescado por concentrado de proteína de soya afecta la concentración del aminoácido metionina en el alimento, lo cual se ve reflejado en la disminución de crecimiento de los peces.
- La inclusión de concentrado de proteína de soya no disminuye significativamente el costo de las dietas, por lo que de acuerdo a lo resultados de la tasa de eficiencia económica, un remplazo optimo se encuentra al 21.5% en donde no se afectaría la tasa de crecimiento ni el costo beneficio.

8.2. Experimento 2

- Niveles de inclusión de metionina por debajo del 1.0% y por arriba del 1.5% de la dieta afectan negativamente el crecimiento en el *L. guttatus* en dietas formuladas con un 50% harina de pescado y 50% concentrado de proteína de soya.
- Niveles de inclusión de metionina mayores al 1.5% en dietas provocan un exceso de ingesta de metionina en *L. guttatus*, lo que ocasiona una absorción inadecuada de aminoácidos, y por consiguiente una disminución en el crecimiento.
- La inclusión óptima de metionina se encuentra entre el 1.0% y el 1.5%, aunque los resultados de regresión polinomial indican que la adición adecuada de DL- metionina es de 1.16% en la dieta, lo que equivale a 2.47% de proteína en la dieta en base seca.
- El requerimiento de metionina se encuentra al 1.16% en presencia de 1.26% de cisteína base seca o de 2.47 y 2.59% proteína para metionina y cisteína respectivamente.
- Los resultados de regresión polinomial de tasa de eficiencia económica respecto al nivel de adición de metionina fue de 0.81%, sin embargo a este nivel de inclusión afectó el crecimiento de *L. guttatus*.
- Aunque se mejoraron las tasas de crecimiento y conversión alimenticia para el *Lutjanus guttatus* en estos experimentos, es necesario realizar más investigaciones para tratar de sustituir en un porcentaje mayor de harina de pescado en las dietas para la especie, utilizando ingredientes que permitan bajar el costo de las dietas.

9. LITERATURA CITADA

- Abimorad E. G., Favero G. C., Castellani D., Garcia F., Carneiro D. J., (2009). Dietary supplementation of lysine and/ or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. *Aquaculture* 295: 266 – 270.
- Abdelghany A.E.,(2003). Partial and complete replacement of fish meal with gambusia meal in diets for red tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*. *Aquaculture Nutrition* 9; 145-154.
- Alam S. M., Teshima S., Ishikawa M., Koshio S., (2000). Methionine requirement of juveniles Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 31(4): 618-626.
- Allen, GR., 1985. Snappers of the world. An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date. FAO Fish. Synopsis, 208 pp.
- Allen, G.R. ,(1995). Lutjanidae. Pargos. En: W. Fischer, K. Krupp, W. Schneider, C.Sommer, K. E. Carpenter and V.H. Niem (Eds), Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental Volumen III Vertebrados Parte 2. FAO, Roma, pp. 1231-1244.
- AOAC, (1984). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 14th Ed. The Association: Arlington, VA, 1141 pp.
- Berge, G., Grisdale-Helland, B. and Helland, S., (1999). Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture* 178: 139-148.
- Borgeson T.L., Racz V. J., Wilkie D.C., White L.J., Drew M.D, (2006). Effect of replacing fishmeal and oil with simple or complex mixtures of vegetable ingredients in diets fed to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition* 12; 141-149.
- Cai Y. Burtle G. J., (1996). Methionine requirement of channel catfish fed soybean meal –corn-based diets. *Journal of Animal Science* 74: 514-521.

- Catacutan M., R., E Pagador G., (2004). Partial replacement of fishmeal by defatted soybean meal in formulated diets for the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal 1775). *Aquaculture Research* 35: 299-306.
- Chatzifotis S., Polemitou I., Divanach P., Antonopoulou E., (2008). Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. *Aquaculture* 275: 201-208.
- Cowey C. B. (1994). Amino acids requirement of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture* 124: 1-11.
- Cowey y Luquet P., (1983). Physiological basic of protein requirements of fishes. Critical analysis of allowances. In *Protein metabolism and nutrition* 1, pp. 364-384 M Arnal, R Pionand D Borin, editor. Paris: INRA.
- Chou R. L., Her B. Y., Su M. S., Gwang G., Wu Y. H. Chen H. Y., (2004). Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 229: 325-333.
- Day O.J.,y Plascencia G. H. G., (2000). Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture Nutrition* 6: 221-228.
- Deng J., Mai K., Ai Q., Zhang W., Wang X., Xu W., Luifu Z. (2006) Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 258: 503-513.
- Espe M., Hevroy E. M., Liaset B., Lemme A., El-Mowafi A., (2008). Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 274: 132-141.
- FAO GLOBE FISH, (2009). Obtenido de la página de internet el día 10/07/2009 <http://www.globefish.org/dynamisk.php4?id=4701>.

- FAO, (2009). FAO yearbook, Fishery statistic, aquaculture production 2000 Vol. 90/2. Formerly publishes as: FAO Fisheries Circular N. 815 Rev. 11 "Aquaculture Production Statistics.
- García-Ortega, A., Hernández, C., Abdo de la Parra, I. and González-Rodríguez, B., (2002). Advances in the nutrition and feeding of the bullseye puffer *Sphoeroides annulatus*. In: Cruz-Suárez, E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., y Gaxiola-Cortés, G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. *Memorias del VI Simposiom Internacional de Nutrición Acuícola*. Septiembre 3-6, 2002, Cancún, México. pp. 187-196.
- García-Ortega, A., Abdo, I., Villa, Y. and González, B. 2004. Effect of different dietary protein levels in growth, survival and body composition of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. Abstracts of the VII International Symposium on Aquatic Nutrition, November 16-19, 2004, Hermosillo, Sonora, México.
- Goff J. B., Gatlin M. D, (2004). Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. *Aquaculture* 241: 465-477.
- Hansen A. C., Karlsen O., Rosenludn G., Rimbach M., Hemre G. I., (2007). Dietary plant protein utilization in Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Aquaculture Nutrition* 13: 200 -215.
- Hernández M. K., (2007). Evaluación de los requerimientos de proteínas, lípidos totales y dietas practicas en juveniles de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 869). Tesis de Maestría.
- Hu M., Wang Y., Wang Q., Zhao M., Xiong B., Qian X., Zhao Y., Luo Z., (2008). Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *carassius auratus* gibelio. *Aquaculture* 275: 260-265.

- Índice Mundial de precios de productos alimenticios en harina de pescado, (2010). Tomado de la página de internet el día 04/10/2010 <http://www.indexmundi.com/commodities/?commodity=fish-meal&months=120>.
- Kushik S. J., Cove D., Dutto G., Blanc D. (2004). Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 230: 391-404.
- Ketola G. H., (1984). Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. *Comp. Biochemistry Physiology* 73: 17-24.
- Kissil G. W., Lupatsch I., Higgs D. A., Hardy R. W., (2000). Dietary substitution of soy and rapeseed protein concentrates for fish meal, and their effects on growth and nutrient utilization in gilthead sea bream *Sparus aurata* L. *Aquaculture Research* 31: 595-601.
- Lehninger, A., (1994). *Bioquímica*, segunda edición, ediciones Omega, S. A., Barcelona, 73 pp.
- Li, P., Mai K., Trushenski J., Wu G., (2009). New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids* 37: 43-53.
- Lou Z., Liu Y., Mai K., Tian L., Yang H., Tan X., Liu D., (2005). Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. *Aquaculture* 249: 409-418.
- Mambrini M., Roem J., Carvedi J., Lalles and Jaushik, (1999). Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high-energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization. *Journal of Animal Science* 77: 2990 -2999.
- Martinez – Llorens S., Moñino A. V., Vidal A. T., Moya S. V. J., Pla T., M., Jover C. M., (2007). Soybean meal as a protein source gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) diets: Effects on growth and nutrient utilization. *Aquaculture Research*, 38: 82-90.

- Martínez – Llorens S., Vidal A., T., Jauralde G., I., Pla T., M., Jover C., M., (2008). Optimun dietary soybean meal level for maximizing growth and nutrient utilization of on-growing *Seriola quinqueradiata* gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition* 15: 320-328.
- Mai K., Wan J., Ai Q., Xu W., Liufu Z., Zhang L., Zhang C., Li H., (2006). Dietary methionine requirement of large yellow croaker. *Aquaculture* 253: 564–572.
- Moore Stanford, (1962) Amino acid determination, methods and techniques. *Journal of Biology Chemistry* p. 663–670.
- Murthy, R. K., Varghese, T. J., (1998). Total sulphur amino acids requirements of the Indian major carp. *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition* 4: 61-65.
- Muzinic L.A., Thompson K.R., Metts L.S., Dasgupta S. y Webster C.D., (2006). Use of turkey meal as partial and total replacement of fish meal in practical diets for sunshine bas (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) grown in tanks. *Aquaculture Nutrition* 12: 71-81.
- Osuna B., Chávez C. (2009). Requerimiento nutricional de vitamina C y efectos de su deficiencia en el desarrollo de juveniles de pargos flamenco (*Lutjanus guttatus*), (Steindachner, 1869). Tesis de Maestría.
- Pereira T. G. y Oliva-Teles., (2003). Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Aquaculture Research* 34: 1111-1117.
- Robins K. R. Saxton A. M. y Southern L.L.,(2006). Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *Journal of Animal Science* 86: 155-165.
- Rodríguez M. F., García O. A., (2009). Efecto de la inclusión de axtasantina en el alimento sobre la pigmentación de la piel de *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) bajo condiciones de cultivo. Tesis de Maestría.
- Rojas, M., Maravilla, E. y Chucas B., (2004). Hábitos alimentarios del pargo de la mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: *Lutjanidae*) en Los Cobano y

Puerto La libertad, El Salvador. Revista Biología Tropical 52 (1): 163-170.

Ruchitmat T., Masumoto T., Hidetsuyo H. S, (1997). Quantitative methionine requirement of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Aquaculture 150: 113-122.

Sardar P., Abid M., Randhawa H.S. Prabhakar S.H, (2009). Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in indian major carp, Rohu (*Labeo rohita H.*) fed soy protein-based diet. Aquaculture Nutrition 15: 339-346.

Sareen S. G., Smith J. L., Groff J. L. Advanced nutrition in human metabolism. 600 pp 5ta. Edición, editorial Kindle.

Sánchez-Garaysar A. B., Almazán. R., García O., Abdo I. (2008). Growth and behaviour of spotted rose snaper *Lutjanus guttatus* fed under different feeding frequencies. Symposium of World Aquaculture Society. September 25-29, 2008 Veracruz, México.

Salze Guillaume, Ewen McLean, P. Rush Battle, Michael H. Schwarz, Steven R. Craig, (2010). Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentrom Canadum*. Aquaculture 298: 294-299.

Sánchez – Lozano N. B., Vidal A. T., Martínez-Llorens S., Nogales M. S., Espert B. J., Moñiño L. A., Pla T. M., Jover C. M., (2007). Growth and economic profit of gilthead sea bream (*Sparus aurata, L.*) fed sunflower meal. Aquaculture 272: 528-534.

Sánchez-Lozano N. B., Martínez-Llorens S., Tomas-Vidal A., Jover Cerda M., (2009). Effects of high-level fish meal replacement by pea and rice concentrate protein on growth, nutrient utilization and fillet quality in gilthead seabream (*Sparus aurata, L.*). Aquaculture 298: 83 -89.

Schwartz F.J., Kirchgessner M., Deuringer U., (1998). Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 161: 121-129.

Storebakken, T., Shearer, K. & Roem, A., (2000). Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon *Salmo salar* fed diets with fish meal and soy protein concentrate as the main sources of protein. *Aquaculture Nutrition* 6: 103-108.

Takagi S., Murata H., Goto T., Endo M., Yamashita H., Ukawa M., (2008). Taurine is an essential nutrient for yellowtail fed non-fish meal diets based on soy protein concentrate. *Aquaculture* 280: 198–205.

The International Fishmeal and fish oil Association. Datos obtenidos en la fecha 05/08/10 de la página de internet: <http://www.allaboutfeed.net/news/earthquake-pushes-fishmeal-prices-to-all-time-high-4372.html>).

Villa L. A., García O., (2005). Efecto de diferentes niveles de proteínas y lípidos en el alimento, sobre el crecimiento y sobrevivencia del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Tesis de Maestría.

Villa-López y García-Ortega (2008). Evaluation of soy protein concentrate and canola oil as protein and lipid sources in grow-out diets for bullseye puffer *Sphoeroides annulatus*. IX International Symposium On Aquaculture Nutrition. November 24-27, 2008 Ensenada, Baja California, México.

Wathelet Bernard, (1999). Nutritional analyses for proteins and amino acids in beans (*Phaseolus* sp.) *Biotechnology Agronomy Society Environmental* 3:197–200.

Wilson, R. P. Halver, J. E., (1986). Protein and amino acid requirements of fishes. *Annual Review Nutrition* 6: 225-244.

Zhou Q.-C., Mai K.-S, Tan B.-P, Liu Y.-J., (2005). Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition* 11; 175 -185.

Yan Q., Xie S., Zhu X., Lei W., Yang Y., (2007). Dietary methionine requirement for juvenile rockfish *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture Nutrition* 13:163-169.

10. ANEXO 1

Soluciones utilizadas durante la técnica de determinación de perfil de aminoácidos por cromatografía líquida de alta resolución.

- Solución Citrato

Agregar:

21 g. de ácido cítrico y disolver en 200 ml de NaOH 1 N.

- Buffer de citrato

Agregar:

33.3 ml de Sol. Citrato + 66.7 ml de HCl 0.1 N

- Fase Móvil:

Agregar:

8.20 g/l de acetato de sodio 0.1 M

Ajustar el pH a 7.2

Posteriormente:

900 ml de acetato de sodio 0.1 M + 95 de metanol + 5 ml de tetrahidrofurano.

- OPA:

Mezclar:

10 mg de OPA + 250 μ l metanol + 37.5 solución Brij 35 + 25 μ l de β – mercaptoetanol, se afora a 10 ml con buffer de borato de potasio (pH 10.4).

Nota: Esta solución se debe de preparar cada 24 hrs, cuidando que no le de la luz, ya que es foto sensible debido a que es la que le confiere fluorescencia a los aminoácidos, para ser detectados.