

Uso de ingredientes de origen vegetal como fuentes de proteína y lípidos en alimentos balanceados para peces marinos carnívoros

Armando García-Ortega^{1*}, Dolores Muy-Rangel², Ana Puello-Cruz¹, Yeni Villa-López¹, Mauricio Escalante-Rojas¹ y Kattia Preciado-Iñiguez¹

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Unidad Mazatlán. Apdo. Postal 711, C.P. 82010. Mazatlán, Sin., México; ² CIAD Unidad Culiacán.

E-mail: agarcia@ciad.mx

Resumen

En este documento se presentan los resultados de estudios donde se sustituyó harina de pescado (HP) y aceite de pescado (AP) por ingredientes de origen vegetal como el concentrado de proteína de soya (CPS) y aceite de canola (AC), para el desarrollo de la tecnología de cultivo de los peces marinos carnívoros botete diana (*Sphoeroides annulatus*) y pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*). En los alimentos de los dos primeros experimentos se emplearon niveles de sustitución 0 al 100% (peso seco) de HP por CPS para ambas especies. Los resultados de regresión cuadrática indican que los mejores resultados respecto a ganancia de peso contra nivel de inclusión de CPS en la dieta es de 11.1% para botete y de 27.3% para pargo. El 100% de reemplazo de HP por CPS no produjo resultados favorables en las dos especies. También se determinó el requerimiento de metionina para el pargo lunarejo, y los resultados preliminares nos indican que el mayor crecimiento de los peces se obtuvo con un nivel de inclusión de 1.5% y el crecimiento disminuyó a partir del 2.0% de metionina en la dieta. El efecto de la sustitución de AP por AC en diferentes niveles en alimentos para pargos mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) con un menor crecimiento al 100% de inclusión de AC en la dieta durante la primera parte del experimento. En la segunda parte, al concluir el periodo de alimentación con una dieta de finalización el tratamiento con 0% de AC presentó la mayor ganancia en peso y el promedio de peso final fue de 271.4 g comparado con el de 100% de AC que fue de 237.5g.

Palabras clave: concentrado de proteína de soya, aceite de canola, metionina, peces marinos, botete, pargo lunarejo

Introducción

La rápida expansión de la acuicultura en las últimas dos décadas ha ocasionado un incremento considerable en la demanda de alimentos balanceados los cuales dependen en buena medida de la inclusión de ingredientes de origen marino, en particular los alimentos para especies carnívoras. Los alimentos balanceados son esenciales en el desarrollo de la acuicultura y pueden representar porcentajes superiores al 50% de los costos totales de producción en el cultivo de peces en sistemas intensivos. Es por ello que la optimización en la manufactura, calidad y uso de los alimentos acuícolas ha sido necesaria para incrementar la eficiencia de producción comercial de diversas especies de peces y crustáceos (Watabane 2002). Algunos de los principales ingredientes que se usan en la formulación de los alimentos provienen de las pesquerías las cuales han llegado a su límite máximo de explotación, situación que restringe el uso actual y futuro de las harinas y aceites de pescado en alimentos acuícolas (Tacon y Metian, 2008). Por lo anterior, resultan relevantes las investigaciones enfocadas a encontrar fuentes alternativas de proteína y lípidos para los alimentos acuícolas como los son, por ejemplo, los ingredientes de origen vegetal.

Para mantener la sustentabilidad y reducir los costos en la producción de alimentos balanceados para acuicultura, el uso de diferentes proteínas y aceites de origen vegetal para la sustitución parcial o total de harinas y aceites de pescado en alimentos acuícolas ha sido investigado en varias especies (Turchini et al., 2009; Hardy 2010). Uno de los ingredientes vegetales más estudiados es la soya de la cual se producen anualmente más de 200 millones de toneladas a nivel mundial. La soya contiene niveles aceptables de proteína y un perfil de aminoácidos relativamente balanceado, por lo que se le considera un producto adecuado como ingrediente alternativo en alimentos formulados para acuicultura (Gatlin et al., 2007). Sin embargo, algunas deficiencias nutricionales en la soya como su bajo contenido de metionina, lisina y la presencia de factores anti-nutricionales limitan su uso como ingrediente en alimentos para peces. De los productos de la soya, los concentrados de proteína son de los candidatos más promisorios para sustituir las harinas de pescado en

alimentos acuícolas, principalmente por la ausencia de factores anti-nutricionales, su calidad y altos niveles de proteína (Hardy 2010).

Diversas investigaciones se han realizado en la utilización del concentrado de proteína de soya (CPS) como fuente de proteína en alimentos balanceados para peces marinos. Los resultados han sido prometedores con la dorada (*Sparus aurata*; Kissil et al., 2000), rodaballo (*Scophthalmus maximus*; Day y Plascencia-González, 2000), lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*; Deng et al., 2006) y cobia (*Rachycentron canadum*; Salze et al. 2010). En estos estudios se han utilizado CPS con contenidos de proteína cruda entre 62-73%. Los valores de coeficientes de digestibilidad aparente de la proteína del CPS se ha reportado en 92.3% (Kissil et al., 2000) para la dorada y de 85.5% en dietas con CPS para el lenguado del Atlántico (Berge et al., 1999). También se han demostrado varios niveles de sustitución de harina de pescado por SPC en los alimentos balanceados para peces marinos los cuales oscilan entre el 20% y el 100% dependiendo de la especie, la utilización combinada de CPS con otras fuentes proteicas y de la complementación con aminoácidos (Day y Plascencia-González, 2000; Deng et al., 2006; Chatzifotis et al., 2008; Takagi et al., 2008; Salze et al., 2010). La metionina es uno de los dos aminoácidos que contienen azufre y es esencial para los peces, por lo que debe ser administrado a través del alimento ya que el organismo no tiene la capacidad para sintetizarlo. Este aminoácido tiene un papel importante en la síntesis de proteína y otras funciones fisiológicas en los peces, por ejemplo como intermediario en la síntesis de cisteína y taurina (Wilson 2002; Li et al., 2009). Los ingredientes derivados de la soya como el CPS son limitantes en metionina, por lo que se deben conocer los requerimientos para este aminoácido cuando se usan ingredientes con bajo o nulo contenido de metionina en las formulaciones de alimentos. Los requerimientos de metionina en alimentos balanceados para varias especies de peces marinos se han reportado dentro de un rango de 1.0 a 1.8 % (peso seco), o de 1.9 a 3.3 % del contenido de proteína en la dieta (Thebault et al., 1985; Moon y Gatlin, 1991; Alam et al., 2001a; Alam et al., 2001b; Luo et al., 2005; Mai et al., 2006; Zhou et al., 2006; Yan et al., 2007).

Los lípidos tienen un papel esencial en la nutrición de peces ya que constituyen una importante fuente de energía no-proteica y de vitaminas liposolubles, además de tener un efecto en el ahorro de proteína de los alimentos. El aceite de pescado es la mejor y principal fuente de lípidos en alimentos acuícolas por su contenido de ácidos grasos poliinsaturados, en particular los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA por sus siglas en inglés) de la serie omega-3 como el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3; EPA) y el ácido docosahexaenoico (22:6n-3; DHA). Estos HUFA son esenciales para lograr un desarrollo óptimo en los peces marinos (Kanazawa et al., 1979; Watanabe 1993; Izquierdo 1996; Sargent et al., 1999). Debido a que el abastecimiento y costo del aceite de pescado son limitantes para la expansión en la producción de alimentos acuícolas (Tacon y Metian, 2008), se realizan investigaciones para lograr su reemplazo por fuentes alternativas de lípidos de origen vegetal y conocer su efecto en las diferentes especies de cultivo. Se han reportado varios estudios con buenos resultados en la sustitución parcial o total del aceite de pescado por aceites vegetales en alimentos para peces marinos tales como el pargo australiano (*Pagrus auratus*), dorada (*S. aurata*), lubina de mar (*Dicentrarchus labrax*), pargo rojo (*P. major*), barramundi (*Lates calcarifer*) y mero (*Epinephelus coioides*) (Glencross et al., 2003a; Izquierdo et al. 2003; Raso y Anderson, 2003; Lin et al., 2007). El uso de aceites vegetales en alimentos acuícolas generalmente no afecta el crecimiento de los peces, aunque en algunas especies si afecta en los niveles máximos de sustitución. Por otro lado, se ha observado que el contenido de ácidos grasos omega-3 (especialmente EPA y DHA) en el músculo de peces alimentados con aceites vegetales disminuye considerablemente afectando el valor nutricional de los peces para el consumo humano. Diversas estrategias se han implementado para solucionar este problema, entre las cuales se encuentra el uso de aceites vegetales en el alimento de engorda durante el mayor tiempo de cultivo, y de alimentos de finalización con aceite de pescado antes de que los peces alcancen la talla de mercado deseada (Glencross et al., 2003b; Bell et al. 2003; Izquierdo et al., 2005; Fountoulaki et al. 2009).

El botete diana (*Sphoeroides annulatus*) y el pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) son especies de peces marinos con una amplia distribución en el Pacífico Oriental tropical, la

cual se extiende desde México hasta Perú (Allen y Robertson, 1994; Thomson et al., 2000). Son peces que alcanzan un buen valor de mercado, aproximadamente US\$11 y US\$7 por kilogramo respectivamente y que en el caso del pargo es una especie importante en la pesca artesanal en la región. Estas dos especies tienen un alto potencial para el cultivo a escala comercial. En la pasada década, en el CIAD Mazatlán se desarrollaron con éxito las tecnologías para el cultivo de las dos especies. En la actualidad se realiza la reproducción en cautiverio y la producción controlada de larvas y juveniles de ambas especies. Asimismo, existen operaciones a pequeña escala para el cultivo de pargo en jaulas flotantes en varios estados de la República Mexicana. Los primeros estudios en el desarrollo de alimentos balanceados para estas especies se enfocaron a conocer los requerimientos nutricionales. Los hábitos alimenticios de ambas especies indican que son peces carnívoros (Rojas-Herrera and Chiappa-Carrara, 2002) con requerimientos nutricionales establecidos de al menos 50% de proteína y 6% de lípidos en *S. annulatus* (García-Ortega et al., 2002; Abdo-de la Parra et al., 2006); y de 45% proteína, 9% lípidos en juveniles de *L. guttatus* hasta 25 g (Abdo-de la Parra et al., en prensa); y 40.7% proteína, 11% lípidos en pargos mayores de 100 g de peso durante la engorda (García-Ortega 2009).

Hasta la fecha no existen alimentos balanceados comerciales específicamente formulados para el cultivo de botete diana o pargo lunarejo, por lo que una parte de nuestras investigaciones en años recientes se ha enfocado a la elaboración de formulaciones prácticas y costeables de alimentos para el cultivo a escala comercial de las dos especies. Para lograr estos objetivos, se han probado diversos ingredientes de origen vegetal como fuente de proteína y lípidos en alimentos para *S. annulatus* y *L. guttatus*. En el presente reporte se resumen las investigaciones realizadas sobre la utilización del concentrado de proteína de soya, acemite de trigo y aceite de canola en formulaciones para alimentos de alevinaje y engorda para estas dos especies carnívoras. Entre otros, los objetivos de las investigaciones fueron estudiar la sustitución de la harina y aceite de pescado en alimentos balanceados y su efecto en el crecimiento, utilización de nutrientes y calidad del producto final o composición de ácidos grasos omega-3 en el filete de los peces al final del cultivo. Así como determinar el requerimiento de metionina de los peces que son alimentados con

proteínas de origen vegetal y la elaboración de protocolos de alimentación para el cultivo y engorda de ambas especies en sistemas de cultivo intensivo.

Materiales y métodos

Se realizaron diversos experimentos con *S. annulatus* y *L. guttatus* para evaluar el CPS y acemite de trigo como fuentes de proteína, además del aceite de canola como fuente de lípidos en alimentos para el alevinaje y engorda en ambas especies. Los peces de ambas especies utilizados en todos los experimentos fueron obtenidos de huevos producidos por el Laboratorio de Reproducción del CIAD Mazatlán. Los peces usados en todos los experimentos fueron cultivados en el criadero del mismo centro. En cada experimento se utilizaron peces provenientes del mismo desove. Los alimentos usados en todos los experimentos se formularon con el programa MIXIT WIN (Agricultural Software Consultants, EUA) y para su preparación cada harina de los ingredientes se molió finamente en una pulverizadora de martillos. Posteriormente todos los ingredientes se pesaron de acuerdo a la formulación y se mezclaron homogéneamente en una batidora marca Hobart con una capacidad de 5 kg. La mezcla se pasó por un molino para carne para dar forma de pellet al alimento. Los alimentos se prepararon en dos tamaños de diámetro: 3.2 mm y 4.8 mm. Una vez peletizado, el alimento se colocó en charolas en un secador de aire forzado a 43°C durante un período de 16 horas. Una vez seco el alimento, se cortó manualmente en pequeños fragmentos de aproximadamente 5 a 8 mm de longitud, se guardó en bolsas de plástico y se almacenó en refrigeración a 4°C para su conservación hasta su uso. Los experimentos se realizaron en sistemas de cultivo con tanques circulares de fibra de vidrio de 600 o 3000 litros de volumen, con drenaje central y un flujo constante (15 l/min) de agua de mar filtrada en arena y cartuchos de 20 micras. Para proveer oxígeno a los peces, en cada tanque se colocaron piedras de aireación conectadas a un soplador central que proveyó aireación continua. Los tanques fueron cubiertos con malla-sombra color negro. Cada tratamiento de alimentación se probó por triplicado. La alimentación en cada experimento se realizó a saciedad aparente dos veces por día y el consumo de alimento se determinó diariamente. Al final de cada uno de los experimentos se calcularon

la ganancia en peso de los peces, la tasa de crecimiento específico (TCE) y el factor de conversión alimenticia (FCA).

En todos los experimentos se determinaron la composición proximal (proteína cruda, lípidos totales, ceniza y humedad) de las harinas que se usaron como fuente de proteína, de todas las dietas y de muestras de peces de cada tratamiento al inicio y final de cada experimento. En los experimentos 1, 2 y 3 se analizaron la composición de amino ácidos de las dietas y los peces. En ambas partes del experimento 4 se tomaron muestras de peces al inicio y al final para realizar análisis de composición de ácidos grasos y conocer el efecto de la alimentación con aceite vegetal en la concentración de HUFAs en el músculo de los peces.

Experimento 1: Sustitución de harina de pescado por CPS en alimentos de botete

Para conocer el nivel de uso de CPS en alimentos para la engorda de botete diana se formularon siete dietas con 55% (peso seco) de proteína y 8% de lípidos. Las fuentes de proteína fueron CPS, harina de pescado y calamar fresco. El aceite de hígado de bacalao se usó como fuente de lípidos. Se probaron siete niveles de sustitución de harina de pescado por CPS: 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 100%. El peso promedio inicial de los peces fue de 56.7 g. Se sembraron ocho peces por tanque de 600 l. El experimento duró 12 semanas y cada dos semanas se determinaron el peso y la longitud de los peces.

Experimento 2: Sustitución de harina de pescado por CPS en alimentos de pargo lunarejo

En este experimento se formularon siete dietas para pargo lunarejo con 45% de proteína y 12% de lípidos empleando como fuentes proteicas harina de pescado, CPS (Profine E, Solae Co., EUA), calamar fresco y acemite de trigo. La fuente de lípidos fue aceite de hígado de bacalao. Los niveles de sustitución de harina de pescado por CPS que se aplicaron en las dietas fueron 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 100 %. Los pargos tuvieron un peso

inicial de 16.7 g en promedio y se sembraron 12 peces por tanque de 600 l. La duración del experimento fue de ocho semanas. Los peces se pesaron cada cuatro semanas.

Experimento 3: Determinación del requerimiento de metionina en pargo lunarejo

Para este experimento se formularon seis dietas con varios niveles de inclusión de metionina (DL-metionina 99.9% Sigma) correspondientes a 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5% (peso seco). Las dietas se formularon para contener 45% de proteína y 12% de lípidos empleando como fuentes proteicas harina de pescado, CPS, manto de calamar gigante, acemite de trigo, y como fuente de lípidos aceite de hígado de bacalao. Se elaboró una dieta control sin CPS y sin complementación con metionina. En la formulación de los alimentos se incluyó dextrina, la cual se fue reduciendo conforme se aumentaba la cantidad de metionina en las diferentes dietas. El peso promedio inicial de los peces fue de 20.5 g y en cada tanque se sembraron 12 peces. Los peces se pesaron cada cuatro semanas y el experimento duró 12 semanas.

Experimento 4: Sustitución del aceite de pescado con aceite de canola en alimentos de pargo lunarejo

Este experimento consistió de dos etapas. En la primera se evaluó el crecimiento de los peces con las dietas formuladas para contener 45% de proteína y 15% de lípidos, en las cuales se sustituyó el aceite de pescado (de hígado de bacalao) por aceite de canola (Vita, Proteínas y Oléicos S.A. de C.V., Yucatán, México) a tres niveles de inclusión: 0, 50 y 100%. Todas las dietas contenían harina de pescado, harina de calamar, acemite de trigo y harina de jaiba. En cada tanque de 600 L se sembraron 12 peces con un peso promedio de 77.7 g. Los peces se pesaron cada cuatro semanas y se alimentaron durante 12 semanas. En la segunda etapa del experimento, todos los peces se alimentaron con una dieta de finalización en la que la única fuente de lípidos el aceite de pescado y que fue la misma formulación que la dieta de 0% de sustitución de aceite de pescado. Esta fase duró 12 semanas y se realizó en tanques de 3000 l.

Análisis estadísticos

A los datos de ganancia en peso, TCE y FCA se les aplicó las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza para posteriormente realizar el ANOVA de una vía. Las diferencias significativas ($P < 0.05$) encontradas entre los tratamientos se determinaron con pruebas de comparaciones múltiples de Holm-Sidak con el programa SigmaStat (Systat Software, Inc., USA). Los datos de crecimiento y nivel de reemplazo se ajustaron a una regresión polinomial de segundo orden, con la cual se analizó la relación entre el peso ganado como respuesta al nivel de reemplazo de harina de pescado por CPS en los experimentos 1 y 2, y a la complementación con metionina en las dietas en el experimento 3.

Resultados

Experimento 1

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la ganancia en peso entre los niveles de sustitución del 0 al 50%, observándose el crecimiento más alto en los peces alimentados con las dietas 20 y 30% de sustitución. Una significativamente menor ($P < 0.05$) ganancia en peso y TCE ($\% \text{ día}^{-1}$) se obtuvo en los peces alimentados con la dieta de 100% de reemplazo de harina de pescado por SCP. El análisis de regresión polinomial de segundo orden entre el porcentaje de ganancia en peso y el nivel de inclusión de CPS en las dietas nos indica que el nivel de CPS en alimentos para botete que rinde el crecimiento máximo es 11.1%. El contenido de metionina en las dietas fue inversamente proporcional a la inclusión de CPS, el cual se redujo gradualmente de 1.01% en la dieta de 50% de sustitución a 0.31% en la dieta con 100% de inclusión de CPS. El FCA fue diferente ($P < 0.05$) entre los tratamientos, encontrándose el más bajo con los tratamientos de 20 y 100% de sustitución, valores que correspondieron a 2.7 y 2.4 respectivamente.

Experimento 2

La mayor ganancia en peso se obtuvo con el tratamiento de 40% de sustitución harina de pescado por CPS, sin embargo, este crecimiento no fue significativamente diferente ($P>0.05$) al del obtenido con los tratamientos 0, 10, 30 y 50% de sustitución. En los peces del tratamiento de 100% de reemplazo se observó el menor crecimiento ($P<0.05$) comparado con los demás tratamientos. La regresión polinomial entre la ganancia en peso y el nivel de inclusión de CPS en los alimentos para pargo lunarejo nos indica que se requiere un nivel de 27.3% de CPS para obtener el crecimiento máximo de los pargos cuando se usa esta fuente de proteína vegetal de acuerdo a la formulación realizada. El contenido de metionina de las dietas varió de 0.61% en la dieta con 0% de CPS a 0.18% en la dieta de 100% de inclusión de CPS. La TCE tuvo 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 por CPS, mientras que en los tratamientos de 0-50% no hubo diferencias significativas. Los peces alimentados con la dieta de 100% de reemplazo tuvieron un FCA significativamente más alto ($P<0.05$) que el del resto de los tratamientos, siendo los tratamientos de 40 y 50% de sustitución los de menores FCA ambos con 1.1.

Experimento 3

La ganancia en peso más alta se obtuvo con la dieta control (100% harina de pescado) y con la dieta con la inclusión de 1.5% de metionina, aunque ésta ganancia no fue significativamente diferente ($P>0.05$) a la obtenida con las dietas de 1.0 y 2.0% de inclusión de metionina. El crecimiento tiende a disminuir a partir de 2.0% de metionina en las dietas, siendo la dieta con 2.5% de metionina la que tuvo menor crecimiento incluso que la dieta con 0% complemento de metionina. El análisis de regresión polinomial entre el porcentaje de ganancia en peso y los niveles de inclusión de metionina en la dieta nos indican que el crecimiento máximo de los peces se obtiene con un nivel de 1.16% (peso seco) de metionina en la dieta. El análisis de metionina indica que su contenido en las

dietas fue directamente proporcional a su complementación, de 0.5% en la dieta de 0% de complementación a 4.9% en la dieta de 2.5% de complementación. La TCE no fue diferente ($P>0.05$) entre todos los tratamientos de inclusión de metionina con excepción de la inclusión más alta (2.5%). La misma tendencia fue observada con el FCA el cual no presentó diferencias ($P>0.05$) entre los tratamientos, siendo el más bajo (1.4) con las dietas de 1.0 y 1.5% de inclusión de metionina. El nivel más alto de inclusión de metionina (2.5%) presentó el FCA significativamente más alto y correspondió a 1.7.

Experimento 4

En la primera parte del experimento la mayor ganancia en peso de los peces se obtuvo con la dieta 0% de sustitución de aceite de pescado por aceite de canola (74.2 g) y el más bajo con la dieta de 100% sustitución (53.4 g) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P< 0.05$). Para la TCE no se encontraron diferencias significativas en las dietas entre las dietas 0 y 50% y que correspondió a valores entre 0.6 y 0.7 %/día. La TCE obtenida con la dieta 100% fue significativamente la menor ($P<0.05$) comparada con la obtenida con las otras dos dietas. Una tendencia similar tuvo el FCA para las dietas con 0 y 50% de sustitución de aceite de pescado con valores entre 2.1 y 2.0 respectivamente, mientras que la dieta con 100% de aceite de canola produjo un FCA de 2.4, el cual fue significativamente diferente ($P< 0.05$) a los otros tratamientos.

Para la segunda parte del experimento cuando los peces se alimentaron con la dieta de finalización, la ganancia en peso fue mayor en los peces que fueron previamente alimentados con la dieta de 0% aceite de canola, sin embargo no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en el crecimiento entre los diferentes tratamientos. El promedio de peso final del experimento para los peces de alimentados durante las dos fases con aceite de pescado fue de 271.4 g, y para los peces alimentados primero con 100% de aceite de canola y después con la dieta de finalización fue de 237.5 g. La TCE no fue significativamente diferente entre los tratamientos y su rango fue de 0.5-0.6% por día. El FCA tuvo valores similares a la primera fase sin diferencias significativas entre los

tratamientos y sus valores oscilaron de 1.9 en los peces alimentados previamente con la dieta de 100% canola, a 2.1 en los peces que fueron alimentados en la primera fase con 0% de aceite de canola en el alimento. Al momento de la publicación de este reporte, los análisis de ácidos grasos de los alimentos y peces de este experimento no estaban completos por lo que no se presentan aquí.

Discusión

El crecimiento del botete diana no fue estadísticamente diferente cuando se usaron niveles de sustitución de harina de pescado por CPS de 0 a 50%. Sin embargo, el nivel de sustitución óptimo para lograr el máximo crecimiento se estableció en 11.1% cuando se utiliza esta fuente de proteína. Los resultados del perfil de aminoácidos de las dietas indican que el contenido de metionina disminuyó conforme se incrementó el nivel de inclusión de CPS en las dietas. El requerimiento de metionina en varias especies de peces se ha establecido en niveles del 1.9 al 3.3% del contenido de proteína (Thebault *et al.*, 1985; Moon y Gatlin, 1991; Alam *et al.*, 2001a; Alam *et al.*, 2001b; Luo *et al.*, 2005; Mai *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2007), por lo que al bajo nivel de metionina (0.31%) se le atribuye el bajo crecimiento reportado con la dieta de 100% de sustitución de harina de pescado por CPS. Aunque el nivel de sustitución de harina de pescado obtenido es bajo, es posible aumentar este nivel de sustitución con CPS en dietas para botete si la dieta es complementada con metionina, o se incluye en la formulación una combinación de fuentes de proteína adicionales. El botete diana *S. annulatus* es una especie de pez marino el cual no posee glándulas gástricas y estómago en su fase larvaria, juvenil y adulta (García-Gasca *et al.*, 2006; García-Ortega, 2009). Esta característica es atípica en peces con hábitos alimenticios carnívoros como *S. annulatus*, el cual tiene un alto requerimiento de proteína por arriba de 50% (García-Ortega *et al.*, 2002; Abdo de la Parra *et al.*, 2006). Por lo tanto, en la selección de fuentes de proteína en alimentos para esta especie se deben incluir ingredientes con características adecuadas para su digestión en un sistema carente de digestión ácida del alimento.

En la investigación sobre la sustitución de harina de pescado por CPS en alimentos para pargo lunarejo *L. guttatus*, no se obtuvieron diferencias en los niveles de sustitución del 0 al 50%, aunque el crecimiento más alto se presentó en el nivel de 40% de reemplazo. Esto contrasta con los resultados de Day y Plascencia (2000) con juveniles de rodaballo los cuales presentaron diferencias significativas en crecimiento a un nivel de sustitución de HP del 50% y con los resultados de Deng *et al.* (2006) con el lenguado japonés en donde se encontraron diferencias al 25% de sustitución de la harina de pescado con el CPS. Los resultados de la regresión polinomial que relacionan la ganancia en peso con respecto al nivel de reemplazo de harina de pescado por CPS indican un crecimiento máximo de los peces con un nivel de sustitución de 27.3%. En un estudio con cobia realizado por Zhou *et al.* (2005) no se encontraron diferencias significativas en niveles de sustitución entre 0 y 40%, siendo la ganancia en peso más alta la obtenida con 30%. Al aplicar el análisis de regresión polinomial obtuvieron una inclusión óptima de 18.9% de CPS para lograr el máximo crecimiento en cobia alimentada con este porcentaje de proteína vegetal en su dieta y con la formulación que fue probada. En nuestro estudio el consumo del alimento fue mejor en la dieta de referencia y disminuyó a partir del 50% de sustitución de harina de pescado por CPS, lo cual concuerda con lo reportado para el rodaballo (Day y Plascencia 2000). El mejor resultado de TCA se obtuvo en las dietas con el 40 y 50% de reemplazo (1.07 y 1.06 respectivamente). Los resultados fueron mejores que los obtenidos por Hernández (2007) y Osuna (2009) en donde las TCA se encuentran en un rango de 4.2 y 1.8 para organismos de talla similar a la utilizada en este experimento y empleando como fuente principal harina de pescado, harina de calamar y harina de camarón. Una posible explicación a lo anterior se atribuye a que la ración de alimentación reportados por estos autores fue de tres veces al día, mientras que en nuestro experimento se alimentó a los peces dos veces al día, logrando probablemente así una mejor utilización de los nutrientes en el alimento.

Se han reportado mejoras en el crecimiento de los peces al complementar con aminoácidos esenciales formulaciones de alimentos que contienen niveles de sustitución de entre 25% hasta 75% con proteínas de origen vegetal (Chatzifotis *et al.*, 2008; Takagui *et al.*, 2008).

En nuestras investigaciones con el pargo lunarejo encontramos que el crecimiento de los peces aumenta proporcionalmente al incrementar, en dietas con un 50% de sustitución de harina de pescado por CPS, la complementación con metionina de 0 a 1.5% (peso seco) con resultados incluso similares a la dieta control con 100% de harina de pescado. Sin embargo al alcanzar 2.0 y 2.5% el crecimiento tiende a disminuir, lo que corresponde a un contenido en la dieta de 5.13 y 4.90% de metionina respectivamente. Lo anterior sugiere que para juveniles de pargo lunarejo el requerimiento óptimo de metionina se encuentra por debajo de 2%. El análisis de regresión polinómica nos indica que de acuerdo a la relación del porcentaje de ganancia en peso y el nivel de inclusión de metionina en los alimentos probados, el nivel óptimo de metionina para lograr el máximo crecimiento en *L. guttatus* es de 1.16% en el alimento o 2.6% del contenido de proteína. Estos resultados concuerdan con los obtenidos con juveniles de mero (*E. coloides*) en donde la mayor tasa de crecimiento se observó con 1.31 % de metionina en las dietas (Luo *et al.*, 2005), también con el pez roca (*Sebastes schlegeli*; Yan *et al.*, 2007) obteniendo el mayor crecimiento al 1.37% de inclusión de metionina en la dieta, y con el lenguado japonés (*P. olivaceus*; Alam *et al.*, 2001) para el cual se encontró un requerimiento de 1.49% de metionina en el alimento. La reducción del crecimiento en las dietas con los mayores niveles de complementación de metionina en el alimento en comparación con la dieta sin complementación, probablemente se debió a que un nivel excesivo de metionina ocasiona su acumulación y oxidación a cetonas y otros metabolitos tóxicos que afectan el crecimiento (Murthy y Varghese 1998).

Las investigaciones sobre el uso de aceite de canola para sustituir al aceite de pescado en alimentos para la engorda de pargo lunarejo nos indican que la sustitución de hasta 100% si afecta significativamente la ganancia en peso del pargo *L. guttatus*, pero no una sustitución de 50%. Sin embargo a pesar del menor crecimiento de los peces alimentados con la dieta de 100% de aceite de canola, su crecimiento se vio compensado gracias al uso de la dieta de finalización con aceite de pescado. Al final de las dos etapas del experimento no se encontraron diferencias en el crecimiento entre todos los tratamientos. Lo anterior nos indica que, en el periodo de estudio que abarcó 24 semanas con un peso promedio inicial de los peces de 77.7 g y finalizando con un peso promedio de 252.1 g, la estrategia de

alimentar a los pargos con aceite vegetal en el alimento durante la primera etapa y con una dieta de finalización con aceite de pescado en la segunda no representó pérdidas en el crecimiento de los peces y si ahorros en el costo del alimento. Algunos estudios han reportado una sustitución exitosa del 60% de aceite de pescado por aceite de canola para la dorada (*S. aurata*) y la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) (Izquierdo *et al.*, 2003). En el pargo australiano (*P. auratus*) se logró la sustitución total con aceite de canola refinado y un 75% con aceite de canola crudo sin afectar el crecimiento, sin embargo el FCA aumentó conforme se incrementaba la cantidad de aceite de canola crudo (Glencross *et al.*, 2003a). En el caso del pargo rojo *P. major* se sustituyó exitosamente totalmente el aceite de pescado por aceite de canola (Huang *et al.*, 2007). También se logró logro sustituir el 91% del aceite de pescado por aceite de canola en alimentos de engorda del botete diana (*S. annulatus*; Villa-López y García-Ortega, 2008).

Los resultados de nuestras investigaciones demuestran el alto potencial del CPS como fuente de proteína de origen vegetal para disminuir el uso de harina de pescado en alimentos para la engorda de botete diana pargo lunarejo, ambas especies de hábitos alimenticios carnívoros. Asimismo, se demuestra la utilidad del aceite de canola, que es una fuente de energía de origen vegetal, para la sustituir el aceite de pescado en alimentos acuícolas. También las investigaciones aquí reportadas proponen estrategias de alimentación enfocadas a mejorar la calidad nutricional y eficiencia en los costos de producción de los peces marinos cultivados en México.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de Blanca González, Héctor Canseco, Noemí García, Isabel Abdo, Estela Rodríguez, Gabriela Velasco del CIAD Mazatlán, y de Rosabel Vélez, Ilianne Mendoza y Verónica Pérez del CIAD Culiacán. También se agradece a Francisco Negrete de DSM Nutritional Products México, S.A. de C.V. por su amable provisión de premezclas de vitaminas y minerales. Parte de este trabajo fue realizado dentro del proyecto SAGARPA-CONACYT “Desarrollo y evaluación de alimentos balanceados para optimizar los procesos de reproducción y engorda en el cultivo de botete diana (*Sphoeroides annulatus*)” clave: 2004-C01-196 dirigido por el primer autor.

Referencias

- Abdo de la Parra I., Camacho J., González-Rodríguez B., Martínez-Rodríguez I., Hernández C., García-Ortega A. (2006) A preliminary study on the effects of dietary protein level on growth and survival of juvenile bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus*). *World Aquaculture* **37**(1), 34-37.
- Abdo de la Parra M.I., Rodríguez-Ibarra L.E., Hernández C., Hernández K., González-Rodríguez B., Martínez-Rodríguez I., García-Ortega, A. (en prensa) Evaluación de diferentes niveles de proteína y lípidos totales en la dieta sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*.
- Alam S., Teshima S., Ishikawa M., Koshio S. (2001a) Methionine requirement of juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *World Aquaculture Society* **31**, 618-626.
- Alam M.S., Teshima S., Ishikawa M., Koshio S., Yaniharto D. (2001b). Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine. *Aquaculture Nutrition* **7**, 201-209.
- Allen G.R., Robertson D.R. (1994). Fishes of the tropical eastern pacific. University of Hawaii Press, Honolulu, USA 332 pp.
- Bell J.G., Tocher D.R., Henderson R.J., Dick J.R., Crampton V.O. (2003) Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *Journal of Nutrition* **133**, 2793–2801.
- Berge G.M., B. Grisdale-Helland, S.J. Helland (1999) Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* **178** (1-2), 139-148.
- 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.
- Rojas-Herrera A.A., Chiappa-Carrara X. (2002) Feeding habits of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Pisces:Lutjanidae) in the coast of Guerrero, Mexico. *Ciencias Marinas* **28**, 133-147.
- Day O.J., 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.
- Fountoulaki E., Vasilaki A., Hurtado R., Grigorakis K., Karacostas I., Nengas I., Rigos G., Kotzamanis Y., Venou B., Alexis M. (2009) Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture* **289**, 317-326.

- García-Gasca A., Galaviz M., Gutiérrez J., García-Ortega A. (2006) Development of the digestive tract, trypsin activity and gene expression in eggs and larvae of the bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus*). *Aquaculture* **251**, 366-376.
- García-Ortega A., Hernandez C., Abdo de la Parra I., 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 Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Septiembre 3-6, 2002, Cancún, México. pp. 187-196.
- García-Ortega A. (2009) Nutrition and feeding research in spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry* **36**, 69-80.
- Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord G. T., Hardy R.W., Herman E., Hu G., Krogdahl Å., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R., Wurtele E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* **38**, 551-579.
- Glencross B.D., Hawkins W.E., Curnow J.G. (2003a) Evaluation of canola oils as alternative lipid resources in diets for juvenile red seabream, *Pagrus auratus*. *Aquaculture Nutrition* **9**, 305-315.
- Glencross B.D., Hawkins W.E., Curnow J.G. (2003b) Restoration of the fatty acid composition of red seabream (*Pagrus auratus*) using a fish oil finishing diet after grow-out on plant oil based diets. *Aquaculture Nutrition* **9**, 409-418.
- Hardy R.W. (2010) Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research* **41**(5), 770-776.
- Hernández M.K. (2007) Evaluación de los requerimientos de proteínas, lípidos totales y dietas prácticas en juveniles de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Tesis de Maestría CIAD-Mazatlán, 79 pp.
- Huang S.S.Y., Oo A.N., Higgs D.A., Brauner C.J., Satoh S. (2007) Effect of dietary canola oil level on the growth performance and fatty acid composition of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* **271**, 420-431.
- Izquierdo M.S. (1996) Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* **2**, 183-191.
- Izquierdo M.S., Obach A., Arantzamendi L., Montero D., Robaina L., Rosenlund G. (2003) Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquaculture Nutrition* **9**, 397-407.
- Izquierdo M.S., Montero D., Robaina L., M.J. Caballero, Rosenlund G., Ginés R. (2005) Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* **250**, 431- 444.

- Kanazawa A., Teshima S., Ono K. (1979) Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity of bioconversion of linolenic acid in highly unsaturated fatty acid. *Comparative Biochemistry and Physiology* **63**, 295-298.
- 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.
- 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.
- Lin H.-Z., Liu Y.-J., He J.-G., Zheng W.-H., Tian L.-X. (2007) Alternative vegetable lipid sources in diets for grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton): effects on growth, and muscle and liver fatty acid composition. *Aquaculture Research* **38**, 1605-1611
- 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.
- 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.
- Moon H.Y., Gatlin D.M. III (1991) Total sulfur amino acid requirements of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture* **95**, 97-106
- Murthy R.K., Varghese T.J. (1998) Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition* **4**, 61–65.
- Osuna D.B. (2009) Requerimiento nutricional de vitamina C y efectos de su deficiencia en el desarrollo de juveniles de pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*), (Steindachner, 1869). Tesis de Maestría CIAD-Mazatlán, 83 pp.
- Raso S., Anderson T.A. (2003) Effects of dietary fish oil replacement on growth and carcass proximate composition of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Research* **34**, 813-819.
- Salze G., McLean E., Battle P.R., Schwarz M.H., Craig S.R. (2010) Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, **298** (3-4), 294-299.
- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D., (1999) Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* **179**, 217-229.
- Tacon A., Metian M. (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* **285**, 146–158.
- 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.
- Thebault H., Alliot E., Pastoureaud A. (1985) Quantitative methionine requirement of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **50**, 75-87.

- Thomson D.A., Findley L.T., Kerstitch A.N. (2000) Reef fishes of the Sea of Cortez. The rocky-shore fishes of the Gulf of California. University of Texas, Texas, EEUU.
- Turchini G.M., Torstensen B.E., Ng W.K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition. *Review Aquaculture* **1**, 10–57.
- Villa-López A.Y., García-Ortega A. (2008) Evaluation of soy protein concentrate and canola oil as protein and lipid sources in grow-out diets for bullseye puffer *Sphoeroides annulatus*. Resúmenes del IX *Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*, Noviembre 24-27, 2008, Ensenada, Baja California, México.
- Watanabe T. (1993) The importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, **24**: 152-161.
- Watanabe T. (2002) Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, **68**(2), 242-252. doi: 10.1046/j.1444-2906.2002.00418.x
- Wilson R.P. (2002) Amino acids and proteins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego CA, USA. 894 pp.
- Yan Q., Xie S., Zhu X., Lei W., Yang Y. (2007) Dietary methionine requirement for juvenile rockfish *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture Nutrition* **13**, 163-169.
- 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.
- Zhou Q.-C., Wu Z.-H., Tan B.-P., Chi S.-Y., Yang Q.-H. (2006) Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* **258**, 551–557.