



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA EN PLASMA DE LA
CONDICIÓN NUTRICIONAL EN REPRODUCTORES DE
Lutjanus peru (NICHOLS Y MURPHY, 1922) BAJO
CONDICIONES DE CAUTIVERIO.**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Acuicultura)

Presenta

Pedro Arnulfo García Hurtado

La Paz, Baja California Sur, Agosto de 2008

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 9:00 hrs horas del día 17 del Mes de Julio del 2008, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

“DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA EN PLASMA DE LA CONDICIÓN NUTRICIONAL EN REPRODUCTORES DE *Lutjanus peru* (NICHOLS Y MURPHY, 1922) BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO”

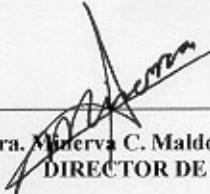
Presentada por el alumno:

Pedro Arnulfo García Hurtado

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN: **Acuicultura.**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA


Dra. Minerva C. Maldonado García
DIRECTOR DE TESIS


Dr. Vicente Gracia López
CO-TUTOR


Dr. Humberto Villarreal Colmenares
CO-TUTOR


DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ TUTORIAL Y REVISOR

Dra. Minerva C. Maldonado García
Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S.

Dr. Vicente Gracia López
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S.

Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S.

MIEMBROS DEL JURADO DE EXAMEN

Dra. Minerva C. Maldonado García
Dr. Vicente Gracia López
Dr. Humberto Villarreal Colmenares
Dr. Ángel I. Campa Córdova (Suplente)

RESUMEN

Los procesos de maduración y reproducción en peces marinos están relacionados con la nutrición de los reproductores, ya que ésta influye directamente sobre la calidad de los gametos y la supervivencia de las larvas. El conocimiento de algunos parámetros nutricionales como niveles de proteína y ácidos grasos en reproductores silvestres sienta las bases para proponer esquemas de alimentación que ayuden a mejorar el estatus nutricional de los reproductores mantenidos bajo condiciones de cautiverio, lo cual se verá reflejado posteriormente en incremento en la calidad de huevos y supervivencia larval. Una alternativa para mejorar la alimentación de los reproductores en cautiverio es conocer los valores basales de la especie de interés durante un ciclo estacional, por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar la condición nutricional de reproductores de huachinango del pacífico (*Lutjanus peru*) en condiciones de cautiverio, mediante el análisis bioquímico-sanguíneo del plasma y sangre, determinado durante un ciclo estacional la concentración de triglicéridos, lípidos totales, proteínas, colesterol, cortisol y ácidos grasos, y comparar los resultados obtenidos con los análisis bioquímico-sanguíneo de reproductores silvestres en plasma y tejido. En condiciones de cautiverio, para determinar la condición nutricional, los reproductores fueron alimentados con una dieta control (Dcon) tradicional, la cual consistió en proporcionar sardina, calamar y langostilla y una dieta experimental (Dexp) enriquecida con aceite de pescado. Los resultados obtenidos nos mostraron que el huachinango es una especie selectiva en condiciones de cautiverio, observando un mayor consumo de langostilla a finales de verano y durante otoño (periodo reproductivo). El menor consumo de alimento durante el ciclo estacional se registró con los reproductores alimentados con la Dexp, en donde observó la mayor supervivencia (100%), mejor apariencia física y coloración, así como un aumento de 1.9 veces más de talla y peso que los reproductores alimentados con la Dcon. En relación a los análisis bioquímico-sanguíneos, se observaron cambios estacionales en el colesterol, triglicéridos, lípidos totales, proteínas totales, cortisol y ácidos grasos en ambos sexos; con diferente patrón dependiendo de la estación. Los niveles más bajos de las medias en colesterol, triglicéridos y lípidos totales se presentaron en invierno en ambas dietas y sexos. Los peces tuvieron la concentración de triglicéridos más alta durante la época reproductiva, detectándose niveles significativamente más altos en reproductores silvestres. No se observaron diferencias significativas en la concentración de proteínas plasmáticas de los reproductores en cautiverio con respecto a los silvestres. Las concentraciones de cortisol determinadas, nos sugieren que para esta especie se registraron los valores más bajos en invierno en ambos lotes de reproductores alimentados con la Dexp y la Dcon, los valores más altos de cortisol fueron registrados con los reproductores alimentados con la Dcon en verano iniciando la época reproductiva, coincidiendo con el aumento de temperatura y con la muerte de algunos reproductores.

Los AG más abundantes en sangre fueron el 16:0, 18:0, 18:1 n-9, EPA y DHA. Observándose diferencias significativamente mayores en reproductores silvestres en ARA en ambos sexos, y en DHA únicamente en hembras. Los resultados bioquímico-sanguíneos, nos muestran que la condición nutricional de los reproductores en condiciones de cautiverio muestran una variación estacional relacionada con su periodo reproductivo, la

especie *Lutjanus peru* desde su captura presenta una gran complejidad por lo que solo fue posible obtener reproductores durante la época reproductiva natural y realizar las comparaciones en los análisis bioquímicos con los reproductores en cautiverio. En general los ácidos grasos relacionados directamente con los procesos reproductivos, se obtuvieron las mayores concentraciones en los reproductores silvestres que los de cautiverio durante la época reproductiva, por lo que es necesario implementar dietas con mayor porcentaje de ácidos grasos principalmente EPA, DHA y ARA en esta especie. El emplear técnicas bioquímicas-sanguíneas, nos da la ventaja de muestrear reproductores en cautiverio sin necesidad de sacrificarlos y así poder saber su condición nutricional y el estado de salud en general en el que se encuentran.

Palabras Clave: condición nutricional, bioquímica-sanguínea, *Lutjanus peru*.

Vo. Bo. Director de Tesis

ABSTRACT

Sexual maturation and reproduction processes in marine fish are related to broodstock nutrition because of its direct influence on gamete quality and larval survival. Knowledge of some nutritional parameters as protein and fatty acid levels in wild broodstock constitutes a base for suggesting feeding practices as an aid in nutritional status enhancement of broodstock maintained in captive conditions. This in turn will be reflected later in egg quality and larval survival improvement. An alternative to improve nutrition of broodstock kept in captivity is to estimate normal values from species of interest through all seasons and by this means determine nutritional condition of broodstock. In this way the objective of the present research was to investigate nutritional condition normal values from Pacific red snapper *Lutjanus peru* kept in captivity by means of plasma and blood biochemical analyses, determining triglycerides, total lipids, proteins, cholesterol, cortisol and fatty acids during an all season cycle; and compare these results with those similarly obtained from wild organisms. To determine nutritional condition in broodstock kept in captivity, they were fed on a control diet (Dcon) which consisted of sardine *Sardinops sp.*, squid *Dosidicus gigas* and pelagic red crab *Pleuroncodes planipes*; and an experimental diet (Dexp) enriched with fatty acids. Results showed that Pacific red snapper, in captivity conditions, is a selective species as observed from a higher consumption of pelagic red crab during end of summer and autumn (reproductive season). The highest food consumption during the seasonal cycle, was recorded in broodstock fed on Dexp where the highest survival (100 %), better physical appearance, and coloration was observed; as well as a 1.9 fold increment in size and weight than the broodstock fed on Dcon. Seasonal changes in cholesterol, triglycerides, total lipids, total proteins, cortisol and fatty acids were observed in blood-biochemical analyses depending on season. The lowest mean values in cholesterol, triglycerides, and total lipids were observed during winter on both sexes and diets. The species showed the highest triglyceride concentration during the reproductive season, being significantly higher in wild broodstock. No differences were detected in plasmatic protein concentration between captive and wild broodstocks. Cortisol concentrations records were lowest during winter for both groups of broodstock even when fed with Dexp or Dcon. Highest cortisol values were recorded on broodstock fed on Dcon during summer, at the start of the reproductive season, coinciding with temperature increase and death of some organisms.

The most abundant fatty acids in blood were 16:0, 18:0, 18:1 n-9, EPA and DHA, showing larger differences in ARA for wild broodstock on both sexes and DHA only for females. Blood-biochemical analyses revealed that broodstock nutritional status at captive conditions showed a seasonal variation related to the reproductive period. *Lutjanus peru* species displays subtle complexities during its capture, a reason why it was only possible to obtain broodstock during the natural reproductive season and perform biochemical analyses compared with broodstock in captivity. Fatty acids related directly to reproductive processes were obtained in higher concentrations in wild than in captive organisms during breeding season. It is then convenient to supplement higher proportion of fatty acid diets, mainly EPA, DHA and ARA to this species. The use of blood-biochemical techniques

has the advantage to sample captive broodstock without sacrificing them and letting us know the nutritional condition and general health status in which they are.

Keywords: nutritional condition, blood-biochemistry, *Lutjanus peru*.

DEDICATORIA

A mi mamá: Genoveva García por el gran esfuerzo que hizo para darnos estudio, por su infinito amor, libertad y apoyo, que en muchas ocasiones le ha provocado grandes sacrificios y esfuerzos pero sin embargo, sigue creyendo en mí. Gracias también a ti José Luis por soportar tanto tiempo a mi mamá.

A mis hermanos: Eloísa, Daniela Cristina y Cristóbal. Sobre todo a Eloísa por toda su ayuda incondicional y apoyo sincero que creo seguiré teniendo siempre.

A mis tías: Concepción, Guadalupe, Margarita, Silvia, Susana y Rosa (familia González García) quienes contribuyeron grandemente para ser quien soy, por todo su apoyo moral y económico mil gracias.

Pedro García.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante la realización de la presente tesis.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste por las facilidades otorgadas durante mi estancia en el mismo. A si mismo al departamento de Posgrado, Betty Gálvez, Claudia Olachea, Osvelia Ibarra, Leticia González, Lupita y a la Dra. Thelma Castellanos por atender nuestras dudas y facilitar nuestra estancia en el CIBNOR. Y por supuesto a Horacio Sandoval y Manuel Melero por el soporte técnico a nuestras computadoras además, de las charlas y consejos.

A la Dra. Minerva C. Maldonado García, por aceptar dirigir esta tesis, por su paciencia y a la vez desesperación, sobre todo durante las biometrías de los huachinangos, y que a pesar de todos los bemoles sacamos adelante el presente trabajo. Gracias por darme la oportunidad de trabajar con esta bonita especie y por su amistad.

A los Doctores Vicente Gracia y Humberto Villarreal por aceptar ser mis tutores y haber compartido sus conocimientos en las clases que tuve la oportunidad de tomar con ellos.

A mi apreciada maestra Diana Dorantes por su dedicación y preocupación por que aprendiéremos el idioma de Shakespeare.

Al Dr. Ángel Campa por aceptar ser mi suplente y por sus comentarios en los seminarios ofrecidos.

Al Dr. Carlos Lechuga por su disponibilidad y el apoyo económico para efectos de la presente tesis.

Mil gracias al cDr. Manuel Terrazas por todo el apoyo durante mi estancia en el CIB, por ayudarme en la formulación de la dieta y por el soporte en los momentos difíciles.

A los técnicos del CIBNOR: del patio de cultivo Colado, Pancho y especialmente a Jorge Sandoval por enseñarme el manejo de los sistemas para el mantenimiento de los peces y su ayuda durante las biometrías. A los técnicos de campo Enrique Calvillo y Jorge Angulo por sus ocurrencias y por todo el apoyo en las capturas y traslado de los huachinangos.

A la Dra. Danitzia Guerrero por enseñarme a tomar las muestras de sangre a los peces y por su apoyo durante todas las biometrías.

Un agradecimiento muy especial a la M.C. Laura Carreón por su asesoría en la extracción y cuantificación de ácidos grasos; gracias Laura por todas las ocasiones que dejaste de hacer tu trabajo para ayudarme y por explicarme una y otra vez las técnicas para el tratamiento de los datos, mil gracias a ti y a Jorge.

A Sonia y Lolita, del laboratorio de Bromatología, por haber procesado las muestras para los análisis proximales; M.C. Roberto Hernández, del laboratorio de Bioquímica Fisiológica, por su apoyo en los análisis de plasma y al M.C. Francisco Hernández Sandoval por todas las facilidades durante la liofilización de las muestras.

Ricardo Flores (Nica), Oscar González (el inge) Fernando Abasolo (Fercho), Laura Guzmán (Lauriux), Erika Mesa, Jorge Iván Cáceres (Bongy), Mario Aguilar, Mauricio Rodríguez, Keny Cota, Hugo Palafox, Anna Belia, Perla Escobar, Mara Wills, Jorge Ramos, Alejandro Ramos y a todos aquellos que hicieron de mi estancia en La Paz algo que nunca olvidare, gracias por su amistad.

A mis amigos de Sonora Nelson Fierro y Guadalupe Leyva gracias Lupe por todo tu apoyo en las buenas y en las malas; y a los dos gracias por compartir todas las amenas platicas

llenas de doble sentido y albures. Dra. Martha Rivas por su ejemplo y dedicación que me hizo de alguna manera decidirme a estudiar una maestría.

Doctores Leonardo Huato y Martha Haro, por compartir a parte de sus conocimientos su amistad y el gusto por el buen comer. Gracias también por la Farfala, que nos ha venido a alegrar la vida a Luzali y a mí.

Mil gracias a la familia Velderrain Algara por todas las vueltas a Topolobampo, por darme posada cuando estoy en Los Mochis y por la gran hija que tienen.

A la ahora M.C. Luzali Velderrain no hay palabras para expresarte mi agradecimiento por todo lo que haz hecho por mí. Gracias por aguantarme todo este tiempo, gracias por compartir tu vida conmigo, por ser mi amiga y mi novia. No pido todo para vivir contigo, pido vida para vivir de todo Cute sabes que no te quiero...TE AMO.

Contenido

1. Introducción	1
2. Antecedentes.....	4
2.1. Generalidades.....	4
2.2. Biología y distribución	5
2.3. Condición nutricional	7
2.4. Parámetros Bioquímicos.....	9
2.4.1 Colesterol.....	9
2.4.2 Triglicéridos.....	9
2.4.3 Lípidos totales.....	10
2.4.4 Proteínas totales	11
2.4.5 Cortisol	11
2.4.6 Ácidos Grasos.....	12
3. Justificación.....	13
4. Hipótesis.....	15
5. Objetivos.....	16
5.1. Objetivo General.....	16
5.2. Objetivos particulares.	16
6. Materiales y Métodos	17
6.1. Captura y Acondicionamiento de reproductores.	17
6.2. Elaboración de las dietas experimentales.	18
6.3. Evaluación química de los ingredientes y dietas experimentales.	18
6.3.1. Análisis químico proximal y energía bruta.....	18
6.3.2. Perfil de ácidos grasos.	19
6.3.3. Formulación y fabricación de los alimentos experimentales.....	23
6.3.4. Suplementación de DHA y EPA.....	23
6.4. Variación de temperatura.....	24
6.5. Proceso de alimentación.	25
6.6. Análisis bioquímicos en plasma.	25
6.6.1. Colesterol.....	26
6.6.2. Triglicéridos.....	26

6.6.3. Lípidos totales.....	26
6.6.5. Proteínas	27
6.6.6. Cortisol	27
6.6.7. Ácidos grasos.....	28
6.7. Análisis bioquímicos en tejido de reproductores silvestres.....	28
6.7.1. Ácidos Grasos de gónada e hígado.....	29
6.8. Análisis estadístico	29
7. Resultados.....	30
7.1. Parámetros biométricos.....	30
7.2. Variables bioquímicas en plasma	31
7.2.1. COL, TG, LT y PROT	31
7.2.2. Cortisol	35
7.2.3. Ácidos grasos en sangre.....	36
7.2.4. Acidos grasos Dexp., Dcon. y reproductores silvestres.....	39
8. Discusión.....	43
8.1 Colesterol.....	47
8.2 Triglicéridos.....	49
8.3 Lípidos Totales	51
8.4 Proteínas Totales.....	52
8.5 Cortisol.....	53
8.6 Ácidos Grasos	55
9. Conclusiones.....	59
10. Literatura citada.....	61

Lista de tablas

Tabla I. Clasificación taxonómica de <i>L. peru</i>	6
Tabla II. Composición proximal de las dietas empleadas en la alimentación de reproductores de <i>L. peru</i> (porcentaje en peso seco).....	19
Tabla III. Composición de ácidos grasos de las dietas para reproductores de huachinango (% del total de ácidos grasos).....	20
Tabla IV. Composición de ácidos grasos de las dietas para reproductores de huachinango (% del total de ácidos grasos).....	21
Tabla V. Contenido, composición proximal y parcial de ácidos grasos de la dieta de referencia usada para suplementar EPA y DHA a los huachinangos.....	24
Tabla VI. Variables de incremento de peso, talla, de los reproductores durante el experimento.....	31
Tabla VII. Composición de ácidos grasos (%), en sangre de hembras de <i>Lutjanus peru</i> alimentadas con una dieta control y una dieta experimental enriquecida con ácidos grasos.....	37
Tabla VIII. Composición de ácidos grasos (%), en sangre de machos de <i>Lutjanus peru</i> alimentadas con una dieta control y una dieta experimental enriquecida con ácidos grasos.....	38
Tabla IX. Composición de ácidos grasos expresado en porcentaje, en sangre de hembras de <i>Lutjanus peru</i> alimentadas con una dieta control (Dcon.), una dieta experimental (Dexp.) enriquecida con ácidos grasos y de organismos silvestres, muestreados durante la época reproductiva.....	40
Tabla X. Composición de ácidos grasos expresado en porcentaje, en sangre de machos de <i>Lutjanus peru</i> alimentadas con una dieta control (Dcon), una dieta experimental (Dexp) enriquecida con ácidos grasos y de organismos silvestres, muestreados durante la época reproductiva.....	41
Tabla XI. Resumen de las respuestas del cortisol en plasma de peces sometidos a diferentes estresores en estudios realizados durante los últimos 8 años.....	55

Lista de figuras

- Figura 1. Cambios bioquímicos estacionales de colesterol, triglicéridos, lípidos totales y proteínas del plasma de reproductores hembras de Lutjanus peru en cautiverio y reproductores hembras silvestres (RS), comparando una dieta experimental (Dexp) y una dieta control (Dcon), bajo una simulación estacional de temperatura. Las diferentes letras indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) estacional en cada dieta y las marcas de asteriscos (*) indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas estacionalmente. (media \pm ES). 33*
- Figura 2. Cambios bioquímicos estacionales de colesterol, triglicéridos, lípidos totales y proteínas del plasma de reproductores machos de Lutjanus peru en cautiverio y reproductores hembras silvestres (RS), comparando una dieta experimental (Dexp) y una dieta control (Dcon), bajo una simulación estacional de temperatura. Las diferentes letras indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) estacional en cada dieta y las marcas de asteriscos (*) indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas estacionalmente. (media \pm ES). 34*
- Figura 3. Cambios estacionales en la concentración de cortisol del plasma de reproductores (machos y hembras), de Lutjanus peru y reproductores silvestres (RS), comparando una dieta experimental (Dexp) y una dieta control (Dcon), bajo una simulación estacional de temperatura. Las diferentes letras indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) estacional en cada dieta y las marcas de asteriscos (*) indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas estacionalmente. (media \pm ES). 35*
- Figura 4. Sumatoria de ácidos grasos de tejido de gónada ($A_{\text{♀}}$ y $D_{\text{♂}}$), hígado ($B_{\text{♀}}$ y $E_{\text{♂}}$) y sangre ($C_{\text{♀}}$ y $F_{\text{♂}}$); durante el otoño (época reproductiva) de reproductores de L. peru en cautiverio (Dcon., Dexp. y silvestres). 42*

1. Introducción

El cultivo de peces marinos se ha venido desarrollando de manera experimental por más de 50 años, sin embargo su desarrollo comercial inició a partir de 1970, en países como Japón, Francia, España, Noruega y Canadá entre otros (Tucker, 1998). La producción mundial de la pesca de captura y la acuicultura suministró alrededor de 141.6 millones de toneladas de pescado para el consumo humano en 2005, lo que equivale a un suministro per cápita aparente de 16.6 kg (equivalente de peso en vivo), cuyo crecimiento desde 2004 se debió a la acuicultura. De la producción mundial total de peces marinos (103.1 millones de toneladas), la acuicultura aportó 18.9 millones de toneladas (FAO, 2006).

Una acuicultura económicamente viable es altamente dependiente de un suministro confiable de huevos fértiles y juveniles, los cuales solo pueden ser producidos de poblaciones de reproductores mantenidos bajo adecuadas condiciones ambientales y un régimen nutricional óptimo (Navas *et al.*, 1997). El estado nutricional (o condición nutricional), de los reproductores influye directa o indirectamente en muchos aspectos de su fisiología, regulando su crecimiento, desarrollo sexual, así como la morfología, características fisiológicas y bioquímicas de los propios reproductores. La condición nutricional de los reproductores también se ve reflejada en la progenie y su calidad en cuanto a contenido de lípidos, ácidos grasos, proteínas, glucógeno, actividad enzimática, variación del índice de RNA:DNA, etc., y por consiguiente aumento en la viabilidad y sobrevivencia de las larvas, asegurando la disponibilidad de cantidades suficientes de juveniles (Buckley, 1984; Navas *et al.*, 1997; Álvarez-Lajonchère, 2006).

Un indicador de condición se podría definir como una medida del potencial biológico, estado sanitario o fortaleza física del animal que aporta información acerca de su capacidad de supervivencia y crecimiento (Cara *et al.*, 2003; 2007) es decir, es un parámetro que nos permite conocer la condición nutricional que guarda el animal en el momento del muestreo. El perfil bioquímico sanguíneo de vertebrados menores, como peces, anfibios, reptiles y

aves, es frecuentemente usado para valorar su estado fisiológico. Sin embargo, existe una carencia general de estudios controlados destinados a explicar los principales cambios en la química sanguínea de estos animales comparados con los mamíferos domésticos (Campbell, 2004).

En este sentido, la fisiología nutricional y la patología clínica, se ha basado en la química y/o bioquímica sanguínea, según Manera y Britti (2006), en general, se requieren más estudios particularmente en la valoración de los rangos normales. A pesar de que los análisis clínicos químicos son usados comúnmente como una herramienta de diagnóstico y biomonitoreo, principalmente para valorar cambios fisiológicos-patológicos, no se han empleado extensivamente, su aplicación se ha venido realizando en vertebrados superiores y las investigaciones en peces marinos son mínimas y se han visto limitadas por la falta de estudios que nos determinen los valores estándares, los cuales ayuden como referencia para poder valorar los cambios fisiológicos (Coz-Rakovac *et al.*, 2005; Tavares-Dias y Moraes, 2007).

Es importante conocer como la bioquímica sanguínea varia estacionalmente (Bayir *et al.*, 2007) porque tales variaciones pueden ser usadas para detectar el estado de salud de los peces (De-Pedro *et al.*, 2005). La valoración de la salud y bienestar de los animales, particularmente de aquellos en cautiverio, frecuentemente implica monitorear las desviaciones de los rangos fisiológicos normales en ejemplares silvestres (Bayir *et al.*, 2007), ya que se ha observado que existe una variación estacional en las determinaciones realizadas a través de químicas-sanguíneas y algunos son significativos, y tales variaciones se han atribuido principalmente al estado de salud, bienestar y condición nutricional, en el que se encuentren los organismo al momento de ser muestreados (Guijarro *et al.*, 2003; Kavadias *et al.*, 2003; De-Pedro *et al.*, 2005).

Por lo mencionado anteriormente y aportar un poco mas de conocimiento sobre este tema, el propósito del presente estudio, fue investigar la condición nutricional en dos lotes de

reproductores de huachinango del pacífico (*Lutjanus peru*), uno alimentado con una dieta enriquecida con ácidos grasos y otro proporcionándole una dieta natural, a través de la evaluación estacional de algunos parámetros bioquímicos en plasma (colesterol, triglicéridos, lípidos totales, proteínas totales y cortisol), y sangre (ácidos grasos); comparando el estado nutricional de los reproductores en cautiverio con reproductores silvestres durante la época reproductiva natural, ayudándonos a determinar los parámetros basales de esta especie para lograr en cautiverio en un futuro, una adecuada alimentación y por lo tanto, un buen estado de salud que nos garantice la obtención de huevos y larvas viables.

2. Antecedentes

2.1. Generalidades

Algunas de las especies de peces marinos que se cultivan en la actualidad de manera comercial son: *Dicentrarchus labrax* (Bellastrazzi *et al.*, 1994), *Sciaenops ocellatus* (Craig *et al.*, 1999), *Sparus aurata* (Diaz *et al.*, 2002), *Scophthalmus maximus* (= *psetta maxima*) (Regost *et al.*, 2001); todas ellas cultivadas principalmente en Europa.

En Asia, específicamente en Taiwán, la cobia *Rachycentron canadum*, ha sido exitosamente desovada, y representa actualmente una de las especies cultivadas de mayor importancia económica en este país (Arnold *et al.*, 2002).

El cultivo de varias especies de salmónidos, represento en la última década una de las áreas de mayor expansión en la acuicultura, principalmente en Europa, Norteamérica y Chile (Ingle-de la Mora, 2002). En Latinoamérica, el cultivo del salmón común o salmón del Atlántico *Salmo salar*, está bien establecido en Chile, donde es la especie marina de mayor importancia tanto económica, como por su volumen; produciendo hasta 200 000 toneladas al año (Buschmann, 2001).

Además muchas otras especies con potencial para la acuicultura se están estudiando, con el fin de conocer su biología reproductiva, requerimientos nutricionales, tasa de crecimiento y su fisiología en general, para con esto poder desarrollar una tecnología de escalamiento hacia un buen manejo de reproductores en condiciones de cautiverio y aumentar con esto la producción comercial de larvas y juveniles.

En México son varias las especies que presentan potencial para el cultivo, entre los candidatos para la acuicultura se encuentran, la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosacea* (Gracia-López *et al.*, 2004), varias especies de robalo, *Centropomus medius*, *C. undecimalis* y *C. parallelu* (Maldonado-García, 2004; Zarza- Meza *et al.*, 2006^a, 2006^b),

respectivamente; el botete diana, *Sphoeroides annulatus*, es otro de las especies marinas que presenta potencial para la acuicultura (Álvarez-Borrego y Fájér-Ávila., 2006), así como el lenguado de california, *Paralichthys californicus*, del cual se tienen avances prometedores para el escalamiento de su cultivo (Barón-Sevilla y Lazo-Corvera., 2007); y el huachinango del pacífico, *Lutjanus. peru* (Pintos-Terán *et al.*, 2003; Dumas *et al.*, 2004), una de las especies del genero *Lutjanus*, de mayor importancia en la pesquería artesanal de las costas del pacifico.

Varias especies de la familia Lutjanidae, especialmente, del género *Lutjanus* han sido objetos de estudio en varios países con el propósito de evaluar su potencial para piscicultura marina (Rubio *et al.*, 2006). Se conocen algunos datos sobre estudios de crecimiento y supervivencia en cautiverio para *Lutjanus.argentiventris* (Serrano-Pinto y Caraveo-Patiño., 1999; Rubio *et al.*, 2006), *L. peru* (Avilés-Quevedo *et al.*, 1996), *L. argentimaculatus* (Emata *et al.*, 1994; Catacutan *et al.*, 2001; Catacutan y Pagador., 2004). Algunos de los estudios sobre pargos han sido orientados a la evaluación de la pesquería, prácticamente artesanal, que se realiza sobre ellos, debido a la gran aceptación y demanda que muchas de ellas tienen en el mercado (Gutiérrez-Vargas, 1990; Ramos-Cruz, 2001; Santamaría-Miranda *et al.*, 2003; Chiappa-Carrara *et al.*, 2004).

2.2. Biología y distribución

El género *Lutjanus* esta representado por 65 especies actualmente reconocidas. Este género de pargos se encuentra dentro de la familia Lutjanidae, la cual cuenta con 17 géneros y 103 especies. El género fue revisado por Allen (1987) como parte de un estudio de la familia Lutjanidae. El huachinango del pacifico *Lutjanus peru* pertenece al orden Perciformes y a la familia Lutjanidae (Tabla I). La especie esta descrita en De La Cruz-Agüero *et al* (1997) y Amezcua-Linares (1996) como a continuación se describe: Tiene un cuerpo alargado comprimido, dorso poco elevado; su altura máxima, de 2.5 a 2.6; ojo de 4.3 a 4.4; hocico

poco agudo, de 3 a 3.3; boca ligeramente oblicua, el maxilar de 2.6 a 2.8; dientes mandibulares pequeños, caninos débiles, presentes solo en la mandíbula superior; dientes vomerinos agrupados en forma de diamante, a veces con prolongaciones hacia atrás; branquiespinas iguales a la mitad del ojo, 12 en la rama inferior; hileras de escamas debajo de la línea lateral, paralelas con esta, 52 en una serie. Aleta dorsal, con 10 espinas, alta y continua, segunda espina anal más fuerte que la tercera; parte blanda igual a la dorsal; caudal lunada, alta; de lóbulos puntiagudos; pectoral puntiaguda, llega al origen de la anal (D X, 12; A III, 7). Color del cuerpo rojo sin marca alguna si acaso con reflejos plateados y con el margen de la aleta caudal oscuro; aletas mas bien claras, mancha axilar en la pectoral.

Tabla I. *Clasificación taxonómica de L. peru.*

Reino	Animalia
Phyllum	Chordata
Clase	Osteichthyes
Orden	Perciformes
Familia	Lutjanidae
Género	<i>Lutjanus</i>
Especie	<i>peru</i>

Amezcu-Linares (1996)

El rango de distribución es desde Bahía Magdalena, Baja California sur, México a las costas del norte de Perú, incluyendo el sur del Golfo de California. Habita en aguas costeras de hasta 90 m (Allen, 1987; Allen y Robertson., 1994). Para el Pacífico mexicano, se han presentado diez especies del género *Lutjanus*, de las cuales se han identificado nueve en la captura comercial (Semarnat, 1999).

El grupo de los lutjanidos esta compuesto, en términos generales, por especies que se alimentan de un espectro relativamente amplio de presas y que cuando están presentes en el mismo hábitat, compiten por los mismos recursos tróficos presentando niveles de traslape

dietético relativamente altos (Chiappa-Carrara *et al.*, 2004). Todos son carnívoros, principalmente ictiófagos, aunque consumen una gran variedad de organismos bentónicos, entre ellos los crustáceos (Santamaría-Miranda *et al.*, 2003).

2.3. Condición nutricional

Para poder evaluar y determinar la condición nutricional es necesario primero conocer valores de referencia de la(s) especie que esta siendo estudiada y de que manera fluctúan a través del año. Sin estos valores tomados de organismos en buenas condiciones nutricionales y de salud seria difícil lograr un diagnóstico del estado fisiológico general de los peces.

Algunos de los parámetros sanguíneos han sido establecidos para la tilapia híbrida *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus* (Hrubec *et al.*, 2000), la lobina rayada *Morone saxatilis* x *Morone chrysops* (Hrubec *et al.*, 2001), juveniles del pacu rojo *Piaractus brachypomus* (Sakamoto *et al.*, 2001), la carpa koi, variedad ornamental de la carpa común, *Cyprinus carpio* (Tripathi *et al.*, 2004; Palmeiro *et al.*, 2007) y el tiburón *Sphyrna tiburo* (Harms *et al.*, 2002).

Congleton y Wagner (2006), observaron en juveniles de salmónidos, que los peces sometidos a un ayuno prolongado disminuían su concentración de proteínas totales, en plasma, con respecto a peces que si eran alimentados. El mismo estudio mostró que el colesterol plasmático decrecía rápidamente en los peces sometidos al ayuno; mientras que los triglicéridos no variaron significativamente.

Un estudio realizado con adultos de lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) reveló pequeñas variaciones estacionales en la concentración de proteínas totales en plasma, siendo estas mas altas durante verano y otoño (Kavadias *et al.*, 2004). La misma especie,

solo que con juveniles, mostró cambios significativos en la concentración de lípidos totales, triglicéridos y colesterol, registrándose los más altos en otoño, verano e invierno respectivamente; mientras que los mas bajos se presentaron en primavera para lípidos totales y colesterol, y en invierno para triglicéridos (Kavadias *et al.*, 2003).

Por otro lado, Hrubec *et al.* (2000) y Roncarati *et al* (2006), han estudiado el efecto de la densidad sobre algunos parámetros sanguíneos en la tilapia hibrida (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) y en la lubina europea y la dorada (*D. labrax* y *S. aurata*), respectivamente; encontrando en el caso de la tilapia, que la concentración de proteínas y colesterol fue ligeramente mayor en aquellas que se encontraban en un sistema de alta densidad, con respecto al de baja densidad. En la lubina y dorada, la concentración de proteínas plasmáticas, colesterol y triglicéridos, se vieron significativamente afectadas por la densidad del cultivo; siendo estas mas elevadas en los tratamientos súper-intensivos e intensivos, que en el tratamiento extensivo (Roncarati *et al.*, 2006).

Las evaluaciones de la condición nutricional están basadas, directa o indirectamente, en la medida de las reservas energéticas del cuerpo. Esto puede determinarse por la composición proximal o por bomba calorimétrica, pero estos métodos son laboriosos y letales. El factor de condición (morfométrico), el cual asume que los peces con un mayor peso y longitud, se encuentran en mejor condición nutricional, es simple, un sustituto no letal de los análisis proximales, pero puede no ser un indicador tan sensible para conocer el contenido de energía (Congleton y Wagner., 2006). El concepto de la condición nutricional asume las relaciones entre las reservas energéticas y el conjunto de cualidades físicas. Una manera de conocer la condición nutricional es determinando las diferencias netas, en periodos de semanas o meses, entre la energía consumida y la gastada. A causa de las dificultades asociadas con la estimación de la condición nutricional y el alimento consumido de animales vivos bajo condiciones naturales, nutrientes y metabolitos de la sangre han tenido que ser usados como indicadores semi-cuantitativos de la condición nutricional y la

actividad de alimentación de aves (Brown, 1996) y mamíferos (Gibson, 1990; Harder y Kirkpatrick., 1994).

Existen varios posibles indicadores del estado nutricional en los peces, cada uno de ellos con sus ventajas y desventajas (Paulsen y Støttrup, 2004). Esto hace importante, que para obtener un cuadro general del estado nutricional, se utilicen tantos indicadores como sea posible. Por lo que, gran atención ha sido recientemente puesta en la caracterización de la sangre de peces como un índice del estado fisiológico (Svoboda *et al.*, 2001).

2.4. Parámetros Bioquímicos

2.4.1 Colesterol

El colesterol pertenece a un amplio grupo de sustancias denominadas esteroides, que incluye diversas hormonas importantes. De hecho, el colesterol es el precursor para la síntesis de muchas de estas sustancias (Mathews, 2002). El colesterol que se utiliza en todo el cuerpo procede de dos fuentes: la alimentación y la síntesis *de novo*. Cuando hay suficiente aporte de colesterol, por la alimentación, la síntesis de esta molécula esta inhibida. Por lo que, la biosíntesis de colesterol se estimula cuando el aporte de la alimentación es pobre en colesterol. Aunque muchos tejidos son capaces de sintetizar colesterol, la mayoría de las moléculas se sintetizan en el hígado (McKee y McKee, 2003).

2.4.2 Triglicéridos

Los triacilglicerolos (TAG) son ésteres de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos. La mayoría de las moléculas de TAG contienen ácidos grasos de diversas longitudes, que pueden ser saturados, insaturados o una combinación de ambas. Debido a que los TAG, o

triglicéridos, no tienen carga, se les denomina, grasas neutras. Los triglicéridos, cumplen con diversas funciones en los animales. Una de ellas es que son la principal forma de almacenamiento de energía y transporte de los ácidos grasos. Una segunda función es la de proporcionar aislamiento para las bajas temperaturas (Nelson y Cox, 2005).

2.4.3 Lípidos totales

Los lípidos son un grupo heterogéneo de biomoléculas. Debido a su diversidad, el término lípido posee una definición más operativa que estructural. Algunas de las moléculas consideradas como lípidos son: las grasas y aceites, los fosfolípidos, los esteroides y los carotenoides, los cuales se diferencian mucho en estructura y función. Las funciones de los lípidos también son variadas. Muchas clases de moléculas lipídicas (fosfolípidos y esfingolípidos) son componentes estructurales de las membranas celulares (McKee y McKee, 2003). Todas las membranas biológicas contienen lípidos como componentes principales (Mathews, 2002). Los triglicéridos, otra clase de moléculas lipídicas, mencionadas con anterioridad; almacenan energía de forma eficaz. Algunos lípidos actúan como señales químicas, vitaminas o pigmentos (Guillaume *et al.*, 2002; McKee y McKee, 2003).

Las variaciones estacionales del nivel de lípidos en peces está relacionada fundamentalmente con el ciclo reproductivo (Sargent, 1995). Se ha observado en peces, a lo largo de su ciclo biológico, periodos en los que los lípidos de reserva se movilizan de forma activa. Esto se debe a los periodos de ayuno durante los meses invernales y el desarrollo de las gónadas durante la época reproductiva (Guillaume *et al.*, 2002). Kavadias (2003) investigó estas fluctuaciones estacionales en la lubina europea.

2.4.4 Proteínas totales

Las proteínas, son dentro de todas las moléculas que se encuentran en los seres vivos, las que desempeñan las más diversas funciones: como catalizadores (enzimas) que dirigen y aceleran miles de reacciones en procesos como la digestión; como componentes estructurales de los organismos. En el sistema de defensa, como anticuerpos, factores de coagulación de la sangre; en el transporte de moléculas o iones (por ejemplo la hemoglobina y lipoproteínas) (McKee y McKee, 2003).

Los peces, como otros animales, no tienen un verdadero requerimiento de proteínas, pero; requieren de un buen balance de aminoácidos esenciales y no esenciales. Las proteínas son la mayor fuente del material orgánico en el tejido de los peces, representa entre un 65-75% del total corporal en peso seco (Wilson, 2002). Los aminoácidos de las proteínas, así como algunos péptidos, son absorbidos a través de la membrana apical y basolateral de los enterocitos de los teleósteos. Algunos de los péptidos absorbidos por la membrana apical son hidrolizados por enzimas citoplasmáticas, con lo que los aminoácidos producto de la hidrólisis, pasan a través de la membrana basolateral al sistema circulatorio (Clements y Raubenheimer, 2006). La concentración de proteína plasmática es un indicador importante del estado fisiológico del animal (Landolt, 1989).

2.4.5 Cortisol

El cortisol (denominado también hidrocortisona) es una hormona esteroidea producida por las glándulas suprarrenales; posee actividad glucocorticoide y mineralcorticoide. Algunas de los efectos de esta hormona son: estimular la síntesis de las enzimas gluconeogénicas, facilitando la adaptación del organismo a situaciones agresivas; sus acciones afectan al metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y los lípidos (McKee y McKee, 2003). Los efectos del cortisol en el metabolismo de carbohidratos y lípidos son difíciles de

especificar, debido a la aparente variabilidad que existe entre especies y a la multitud de las técnicas experimentales que han sido aplicadas en los estudios hechos en estanques (Takei y Loretz, 2006).

2.4.6 Ácidos Grasos

Una de las principales funciones de los ácidos grasos en todos los organismos, es la de generar energía metabólica en forma de ATP vía mitocondrial (β -oxidación), un proceso bien establecido en los peces. En los peces, los lípidos, específicamente los ácidos grasos, son la fuente favorita para obtener la energía metabólica, especialmente en los peces marinos, como queda evidenciado por el alto nivel de aceites (mas del 20 % del peso húmedo), lo cual puede ser alcanzado por peces como el arenque (Sargent *et al.*, 2002).

Claro esta, que la producción de energía, no es la única función que cumplen los ácidos grasos. Siendo componentes importantes de los fosfolípidos, son por consecuencia componentes mayoritarios de las membranas celulares y de las lipoproteínas de transporte; son sustrato para toda una familia de moléculas de carácter hormonal: las prostaglandinas y compuestos emparentados, leucotrienos y tromboxanos. Una función recientemente conocida todavía de forma imperfecta, es la función de segundo mensajero, al menos en el caso de uno de los ácidos grasos considerados esenciales como lo es el ácido araquidónico, 20:4 n6 (Guillaume *et al.*, 2002).

Los peces, de manera natural, contienen niveles altos de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) como son el ácido docosahexaenoico, 22:6 n3, y ácido eicosapentaenoico, 20:5 n3; en sus tejidos y consecuentemente tienen requerimientos nutricionales altos de estos ácidos grasos (Sargent *et al.*, 1997).

3. Justificación

Se han aplicado diferentes metodologías para determinar la condición nutricional y estado de salud en general, principalmente en mamíferos en donde se han llevado a cabo muestreos de poblaciones silvestres de animales, con el fin de conocer los estados basales para luego compararlos con la condición de los ejemplares mantenidos en cautiverio y así proponer alimentos enriquecidos que ayuden a la mejor condición del organismo en cautiverio (Bailes, 1968). En peces marinos los trabajos realizados hasta ahora en cuanto a la condición nutricional se han enfocado principalmente a larvas y juveniles de peces marinos, en donde generalmente se sacrifican los organismos y se realizan estudios bioquímicos con tejido. Las nuevas tendencias para evitar el sacrificio del organismo que originalmente se aplican a mamíferos son a través del análisis en sangre utilizando pruebas químicas-sanguíneas. En algunas especies de peces marinos en etapa reproductiva se han aplicado estas pruebas principalmente en ejemplares silvestres en los cuales han sacrificado al organismo para hacer un comparativo entre lo analizado en tejido con el plasma, estableciendo ya parámetros basales que sirvan como referencia para conocer el estado nutricional de los reproductores silvestres y el estado de salud en general en ejemplares de la misma especie en cautiverio sin necesidad de sacrificar a los organismos. Con esto se pretende mejorar la alimentación de los mismo dependiendo sus necesidades alimentarias estacionalmente, las cuales están relacionadas con los procesos de maduración y reproducción, principalmente los ácidos grasos como el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5 n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6 n-3), juegan un papel importante en la composición de la gónada de los reproductores ya que están relacionados a la viabilidad de los huevos y larvas, así como las variables cuantitativas bioquímicas relacionadas al bienestar fisiológicos y condición nutricional en el que están los reproductores antes y después de la época reproductiva son; colesterol (De-Pedro *et al.*, 2005; Congleton y Wagner., 2006), triglicéridos (Svoboda *et al.*, 2001; Kavadias *et al.*, 2003), lípidos totales y ácidos grasos (Lund *et al.*, 2000), proteínas totales (Congleton y Wagner., 2006; Bayir *et al.*, 2007) entre otros.

Hasta el momento de escribir este trabajo de investigación, no se tiene información de estudios similares realizados con esta especie. Por lo que este trabajo de tesis, intenta contribuir con una parte del conocimiento relacionando con la alimentación en cautiverio, así como las fluctuaciones estacionales obtenidas a través de pruebas bioquímica-sanguínea de *L. peru*; como una herramienta para estimar la condición nutricional y su estado fisiológico en condiciones de cautiverio y en reproductores silvestres durante la época reproductiva, y contribuir con parámetros basales que sirvan para futuras investigaciones.

4. Hipótesis.

Las determinaciones bioquímicas en plasma; de lípidos totales, proteínas totales, colesterol, triglicéridos y cortisol, así como las determinaciones en sangre de ácidos grasos, nos aportarán una referencia cuantitativa del estado nutricional general de reproductores hembras y machos de huachinango (*Lutjanus peru*) mantenidos en cautiverio sin necesidad de sacrificarlos.

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Determinar la condición nutricional en dos lotes de reproductores de huachinango del pacífico (*Lutjanus peru*), uno alimentado con una dieta enriquecida con ácidos grasos y otro proporcionándole una dieta natural, a través de la evaluación estacional de algunos parámetros bioquímicos en plasma y sangre, comparando el estado nutricional de los reproductores en cautiverio con reproductores silvestres durante la época reproductiva natural.

5.2. Objetivos particulares.

- a) Evaluar el efecto de una dieta enriquecida con premezcla de vitaminas, minerales y ácidos grasos (EPA y DHA), utilizando como ingredientes principales sardina, calamar y langostilla, para ser comparada con una dieta fresca compuesta de los mismos ingredientes sin suplementos de enriquecimiento.
- b) Determinar la concentración de ácidos grasos en sangre y en plasma de proteínas, lípidos, colesterol y triglicéridos, de reproductores mantenidos en cautiverio durante un ciclo estacional.
- c) Comparar en reproductores silvestres durante la época natural de reproducción la concentración de ácidos grasos en sangre y proteínas, lípidos, colesterol y triglicéridos en tejido y plasma, con reproductores mantenidos en cautiverio durante la estación reproductiva.

6. Materiales y Métodos

6.1. Captura y Acondicionamiento de reproductores.

Se recolectaron reproductores silvestres de *Lutjanus peru* en la Ribera B.C.S, durante la época reproductiva natural, durante dos periodos reproductivos. Los reproductores se colectaron mediante pesca con anzuelo y carnada entre 80 y 100 metros de profundidad. La temperatura se registró en cada captura a 0 metros, 50 y 80 metros. Los reproductores una vez capturados se colocaron dentro de tubos de pvc, los cuales fueron sumergidos nuevamente a 50 metros de profundidad durante 50 minutos. Una vez pasado este tiempo, los reproductores fueron puestos en un tanque de 700 litros a una temperatura de 24 °C, con oxígeno suplementario, para ser trasladados a las instalaciones del CIBNOR.

Una vez en las instalaciones del CIBNOR, los peces uno a uno fueron anestesiados con MS-222 (100 mg L⁻¹) durante 5 minutos, para después tomar las medidas morfométricas, tales como peso total, longitud distal y total. Cada ejemplar fue sexado, las hembras se determinaron por biopsias ováricas en donde se observó el estado de maduración ovocitaria y los machos por masaje abdominal con la presencia de esperma. Para individualizar a los animales se marcaron con una pistola, introduciendo en la parte intramuscular del dorso una marca (tipo spaghetti) de color con un código.

Para el proceso de aclimatación los reproductores fueron acondicionados en tanques de fibra de vidrio de 8 m³ de capacidad, con forma circular. Los tanques disponían de un sistema de recirculación continuo, el cual pasaba a través de filtros de cartucho de 20 µ a 1 µ, lámparas UV, filtro de arena y un filtro biológico. La temperatura de los tanques fue mantenida por dos enfriadores (chillers), a cada tanque se le suministró aireación suplementaria proveniente de un soplador (blower).

Durante la etapa de aclimatación, a las condiciones de cautiverio, se alimentaron *ad libitum* con una dieta natural a base de pescado, calamar y langostilla. Se observó el

comportamiento y se llevo un registro de los parámetros tales como; salinidad, temperatura, oxígeno, pH, monitoreo continuo de parásitos y un registro de sobrevivencia y alimento consumido.

6.2. Elaboración de las dietas experimentales.

Durante el proceso de aclimatación se tuvieron que realizar diferentes pruebas, tales como textura, flotabilidad y principalmente de palatabilidad. Después de realizar las pruebas y la aceptación de los reproductores al alimento elaborado, se estableció la textura final de lo que sería la dieta experimental, la cual fue formulada empleando el programa Brill Formulation™ (2004).

6.3. Evaluación química de los ingredientes y dietas experimentales.

6.3.1. Análisis químico proximal y energía bruta.

Se realizaron análisis proximales (Tabla II) de los ingredientes de la dieta (calamar, langostilla, sardina, harina de pescado), para determinar su composición de humedad, cenizas, proteínas, extracto etéreo, fibra cruda y energía bruta. El contenido de humedad, proteína, extracto etéreo, cenizas y fibra de los ingredientes de la dieta se determinó siguiendo la metodología descrita por la AOAC (1995). La humedad se determinó por diferencia de peso; el contenido de cenizas se determinó por calcinación en mufla a 550 °C; la proteína fue cuantificada en un digestor y un destilador automático Tecator, siguiendo el método microKjeldhal; para la cuantificación del extracto etéreo se utilizó un sistema Soxtec Avanti, empleando éter de petróleo como solución extractora; se empleo un equipo Fibertec para la cuantificación de la fibra cruda la cual se determinó por hidrólisis ácida y básica (ácido sulfúrico e hidróxido de sodio) sucesiva.

Se calculó el extracto libre de nitrógeno (ELN), por diferencia de 100 usando la siguiente ecuación:

$$\text{ELN} = 100 - (\% \text{ Proteína} + \text{Extracto Etéreo} + \% \text{ Fibra cruda} + \% \text{ cenizas}).$$

La energía bruta se determinó usando un calorímetro adiabático (Parr Instrument Co., Moline, IL).

Todos los análisis, tanto de los ingredientes (calamar, langostilla, sardina, harina de pescado) como de la dieta control (Dcon) y dieta experimental (Dexp), se practicaron por triplicado.

Tabla II. Composición proximal de las dietas empleadas en la alimentación de reproductores de *L. peru* (porcentaje en peso seco).

Composición	Dieta Control			Dieta Experimental
	Sardina ^a	Langostilla ^b	Calamar ^c	
Humedad	74.62±0.36	76.68±0.35	82.16±0.12	62.56±0.25
Proteínas	61.51±0.31	47.56±0.19	85.23±0.22	68.3±0.21
Lípidos	9.72±0.05	11.03±0.25	3.90±0.07	7.47±0.07
Fibra cruda	0	5.42±0.24	0	1.46±0.30
E.L.N.	11.18	14.50	6.20	7.89
Cenizas	17.59±0.24	21.49±0.25	4.67±0.14	14.83±0.22
Energía cal/g	4170.02±1.82	3918.22±7.04	4741.88±8.59	3948.88±10.50

^a *Sardinops sp.*; ^b *Pleuroncodes planipes*; ^c *Dosidicus gigas*

6.3.2. Perfil de ácidos grasos.

Se realizó de acuerdo al método modificado de Bligh y Dyer (1959). Se pesó cada una de las muestras liofilizadas de la Dcon (calamar, langostilla, sardina) y Dexp (calamar, langostilla, sardina, harina de pescado, aceite de pescado); aproximadamente 20 µg, o lo mas cercano posible a este peso (Tabla III y IV).

Tabla III. Composición de ácidos grasos de las dietas para reproductores de huachinango (% del total de ácidos grasos).

FAME	sardina	calamar	lagontislla	H. pescado	ACPES ^a
12:0	0.25	0.05	0.08	0.21	0.12
13:0	0.17	0.00	0.00	0.03	0.05
14:0	7.79	2.92	5.99	10.07	9.50
14:1	-	-	-	-	0.05
iso 14:0	0.28	0.06	0.11	0.13	0.27
anteiso 14:0	-	-	-	-	0.07
15:0	1.93	0.55	0.25	0.73	0.67
iso 15:0	0.14	0.04	0.03	0.05	0.09
16:0	26.99	15.92	10.61	21.03	12.09
16:1 n9	-	-	-	-	10.27
16:1 n7	6.10	3.44	15.11	11.38	0.24
iso 16:0	0.64	0.40	0.80	0.69	0.66
16:2 n6 *	-	-	0.38	0.17	0.23
anteiso 16:0	0.26	-	0.03	0.08	0.09
16:2 n4 *	0.31	0.31	2.25	0.88	1.31
17:0	2.71	1.50	0.32	0.98	0.64
17:1 n7	0.43	0.13	0.17	0.23	0.39
iso 17:0	0.23	0.18	0.13	0.09	0.17
anteiso 17:0	-	-	-	-	0.16
18:0	12.76	8.74	3.03	9.37	3.60
18:1 n9	10.45	4.61	12.28	8.81	8.96
18:1 n7	5.02	2.96	6.05	6.56	4.59
18:2 n6	1.43	0.56	0.82	0.94	1.33
18:2 n3 *	-	-	0.53	0.38	0.47
19:0	0.46	0.25	0.08	0.18	0.19
18:3 n6	-	-	0.60	-	0.30
18:3 n3	0.72	0.22	0.30	0.30	0.77
18:4 n3	0.69	0.70	4.45	0.66	-
20:0	0.75	0.59	0.61	0.44	0.27
20:1 n11	0.58	0.26	0.14	0.28	-
20:1 n9	0.92	5.29	0.96	0.60	0.82
20:1 n7	-	-	-	-	0.26
20:2 n9	-	-	-	-	0.12
20:2 n6	0.33	0.33	0.12	-	0.18
20:3 n6	-	-	0.30	0.15	-
21:0	0.17	0.06	0.02	0.06	0.04
20:4 n6	1.24	1.72	1.50	1.84	1.44
20:3 n3	-	0.77	0.20	0.00	0.10
20:4 n3	-	0.17	1.05	0.35	-
20:5 n3	3.27	11.80	19.52	9.17	20.15
22:0	0.57	0.34	0.33	0.16	0.12
22:1 n9	-	1.06	0.16	0.17	-
23:0	0.16	-	-	-	-
22:5 n3	-	-	-	2.76	3.33
24:0	0.91	0.05	0.03	0.43	-
22:6 n3	10.20	33.69	10.41	8.32	15.49
24:1 n9	1.13	0.33	0.28	1.29	0.33
Σsaturados	57.19	31.65	22.45	44.74	28.86
Σmonosaturados	24.62	18.09	35.14	29.32	25.91
Σpoliinsaturados	18.19	50.26	42.42	25.94	45.22
Σramificados	1.56	0.67	1.10	1.04	1.57
Σn-3	14.88	47.35	36.45	21.95	39.83
Σn-6	3.00	2.61	3.71	3.11	2.63
ARA/EPA	0.38	0.15	0.08	0.20	0.07
ARA/DHA	0.12	0.05	0.14	0.22	0.09
EPA/DHA	0.32	0.35	1.88	1.10	1.30

^a Aceite de pescado Kirkland™ Captex Softgel Int'l, Inc. Cerritos, CA. * Ácidos grasos más probables según su espectro de masas.

Tabla IV. Composición de ácidos grasos de las dietas para reproductores de huachinango (% del total de ácidos grasos).

FAME	Dieta control			Dieta experimental ^a
	sardina**	calamar	lagotislla	
12:0	0.25	0.05	0.08	0.19
13:0	0.17	-	-	0.05
14:0	7.79	2.92	5.99	11.10
14:1	-	-	-	0.28
iso 14:0	0.28	0.06	0.11	0.07
15:0	1.93	0.55	0.25	0.90
iso 15:0	0.14	0.04	0.03	0.08
16:0	26.99	15.92	10.61	22.59
16:1 n9	-	-	-	12.40
16:1 n7	6.10	3.44	15.11	0.26
iso 16:0	0.64	0.40	0.80	0.81
16:2 n6 *	-	-	0.38	0.19
anteiso 16:0	0.26	-	0.03	0.15
16:2 n4 *	0.31	0.31	2.25	1.23
17:0	2.71	1.50	0.32	1.16
17:1 n7	0.43	0.13	0.17	0.19
iso 17:0	0.23	0.18	0.13	-
18:0	12.76	8.74	3.03	0.12
18:1 n9	10.45	4.61	12.28	11.62
18:1 n7	5.02	2.96	6.05	6.34
18:2 n6	1.43	0.56	0.82	1.29
18:2 n3 *	-	-	0.53	0.44
19:0	0.46	0.25	0.08	0.41
18:3 n6	-	-	0.60	-
18:3 n3	0.72	0.22	0.30	0.55
18:4 n3	0.69	0.70	4.45	0.00
20:0	0.75	0.59	0.61	0.88
20:1 n11	0.58	0.26	0.14	-
20:1 n9	0.92	5.29	0.96	1.72
20:2 n9	-	-	-	0.47
20:2 n6	0.33	0.33	0.12	0.26
20:3 n6	-	-	0.30	-
21:0	0.17	0.06	0.02	0.08
20:4 n6	1.24	1.72	1.50	1.49
20:3 n3	-	0.77	0.20	0.17
20:4 n3	-	0.17	1.05	-
20:5 n3	3.27	11.80	19.52	9.89
22:0	0.57	0.34	0.33	0.41
22:1 n9	-	1.06	0.16	-
24:0	0.91	0.05	0.03	0.29
22:6 n3	10.20	33.69	10.41	11.09
24:1 n9	1.13	0.33	0.28	0.81
Σsaturados	57.19	31.65	22.45	39.29
Σmoninsaturados	24.62	18.09	35.14	33.63
Σpoliinsaturados	18.19	50.26	42.42	27.08
Σramificados	1.56	0.67	1.10	1.11
Σn-3	14.88	47.35	36.45	21.70
Σn-6	3.00	2.61	3.71	3.49
ARA/EPA	0.38	0.15	0.08	0.15
ARA/DHA	0.12	0.05	0.14	0.13
EPA/DHA	0.32	0.35	1.88	0.89

^a La dieta experimental incluye harina y aceite de pescado.* AG más probables según su espectro de masas.** Incluye trazas del 23:0.

Se les adicionó 3 mL de $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ (cloroformo:metanol:agua) 1:2:0.5, se sonicaron por tres ciclos de 15 minutos en baño de hielo y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C por 24 horas protegidos de la luz. Después de este tiempo se sonicaron de nuevo y luego de una centrifugación corta (3500 rpm por 10 min a 10 °C), se separa el sobrenadante. Se coloca en otro tubo agregándole 1 mL de cloroformo, 2 ml de agua destilada y butilhidroxitolueno (BHT) <1 % de los lípidos totales, se agita en vortex, se centrifuga y se recupera la fase inferior formada por cloroformo y lípidos (dos veces) Posteriormente se seca con nitrógeno gaseoso (N_2). Se adiciona 2.5 mL de ácido clorhídrico metanólico $\text{HCl}:\text{CH}_3\text{OH}$ (5:95, v/v) y se derivatizan por 2.5 horas a 85 °C (Sato y Murata, 1988). Los ácidos grasos metil esterificados (FAME) obtenidos de la derivatización, se extraen con mL de hexano (C_6H_{12}) grado HPLC, repitiendo este paso dos veces para una mejor extracción. Una vez obtenido el hexano se lava con 2 mL de agua destilada 3 veces, después del tercer lavado se recupera el hexano. Se seca el extracto de hexano que contiene los FAME con nitrógeno gaseoso. Por último se resuspende en un volumen de hexano conocido y se colocan 250 μL en un vial para su inyección en el cromatógrafo.

La determinación del perfil de ácidos como ésteres metílicos se realizó en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo HP1800B GCD System, acoplado a detector de espectro de masas con un rango de masas de 45-450 m/z (masa/carga), empleando una columna capilar de sílice fundida empacada con 2-polietilenglicol como fase estacionaria de 30m de longitud, 0.25 mm diámetro interno y 0.25 μm espesor de film (Supelco Omegamax™ 250). El gas transportador fue helio a un flujo de 0.9 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La temperatura inicial fue de 110°C por 3.3 minutos, después sube a una tasa de 30°C·min⁻¹ hasta 165°C donde se mantiene por 2 minutos y sube 2.2°C min⁻¹ hasta 200°C manteniéndose 25 minutos. El retraso del solvente es de 3.3 minutos. La temperatura del inyector y del detector fue de 250 y 260°C respectivamente. La inyección fue sin división de flujo.

Los ácidos grasos fueron identificados por comparación de los tiempos de retención y espectro de masas de 37 estándares conocidos (catálogo Supelco 47885-U) con una curva realizada de cinco concentraciones 5,10, 20, 40 y 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y cuantificados mediante el software HPCHEM Stations, siendo expresados como porcentaje de área de acuerdo al total de los ácidos grasos identificados.

6.3.3. Formulación y fabricación de los alimentos experimentales.

La dieta experimental de referencia (Tabla V) se formuló empleando los resultados del análisis químico proximal y perfil de ácidos grasos descritos arriba, los cuales fueron cargados en la base de datos del software comercial para computadora Brill Formulation™ (2004).

Para fabricar las dietas, se empleó una mezcladora (Kitchen Aid^{MR}) adicionando primero los macro ingredientes, seguidos de la mezcla de micro ingredientes, para finalmente ser mezclados por 15 minutos.

Posteriormente, los alimentos se embolsaron, se etiquetaron y almacenaron bajo refrigeración (4°C) hasta su uso. Una muestra representativa de cada alimento fue empleada para determinar su composición química proximal, como fue descrito anteriormente.

6.3.4. Suplementación de DHA y EPA.

La misma dieta de referencia fue utilizada como dieta experimental para suplementar el DHA y el EPA, los cuales se agregaron empleando aceite de pescado de la marca comercial Kirkland Signatura, adicionando 720 mg de DHA y 1080 mg de EPA por kg de alimento tal y como se ofrece.

Tabla V. Contenido, composición proximal y parcial de ácidos grasos de la dieta de referencia usada para suplementar EPA y DHA a los huachinangos.

Ingredientes	Clave	% en base húmeda
Calamar fresco	Cal 0606	29.88
Sardina fresca	Sar 0606	25.00
Langostilla fresca	Lan 0606	25.00
Harina de pescado	Hpesc 0606	15.00
Gelatina	J.T. Baker	4.00
Fosfato de calcio dibásico	SIGMA A-050	0.80
Cloruro de colina 62%	LS0511	0.30
Pre-mezcla vitaminas	Vit 0908	0.01
Pre-mezcla minerales	Min 0908	0.01
		100.00
Composición química proximal, energía bruta y ácidos grasos seleccionados:		
	Dieta control	Dieta experimental
Fracción		
Humedad %	77.04	77.04
Proteína cruda %	24.57	24.57
Extracto etéreo %	3.13	3.13
Fibra cruda %	0.46	0.46
Cenizas %	5.25	5.25
Extracto libre de nitrógeno %	15.01	15.01
Energía bruta (kcal/kg)	1585.6	1585.6
DHA mg	3500	4220
EPA mg	3900	4980

Pre-mezcla de vitaminas (mg ó IU/ kg de dieta, excepto en donde se indique otra unidad): A acetato, 4000 UI; A beta caroteno 1000 UI; D₃, 400 UI; E, 30 UI; K₃, 25 mcg; C, 60, monohidrato de tiamina, 1.5; riboflavina, 1.7; piridoxina HCl, 50; D-ácido pantoténico, 10; niacinamida, 20; D-biotina, 30 mcg; ácido fólico, 400mcg; cianocobalamina, 6 mcg. Pre-mezcla de minerales (mg/kg de dieta): Ca, 162 mg; Fe, 18 mg; P, 109 mg; Mg, 100 mg; Zn, 15 mg; Mn, 2 mg; Cu, 2 mg; I, 150 mcg; Se, 20 mcg.

6.4. Variación de temperatura.

Una vez pasado el proceso de aclimatación aproximadamente 6 meses, los reproductores (n=20, 8H:12M) fueron pesados y medidos, y con el primer registro de su sexo, fueron distribuidos de manera proporcional, colocando 10 reproductores (6 machos y 4 hembras) en cada tanque, lo tanques fueron los mismo en donde estuvieron durante la aclimatación.

El fotoperiodo se mantuvo natural sin ningún cambio siguiendo el patrón de luz anual. La temperatura del agua fue aumentando conforme al medio natural mensualmente durante un ciclo anual, la cual fue graduada a través de sensores conectados a un enfriador de agua (chillers).

6.5. *Proceso de alimentación.*

Una vez distribuidos los peces de manera proporcional en ambos tanques (n=10, por tanque), ambas dietas (dieta experimental y dieta control) fueron proporcionadas *ad libitum*. La dieta experimental fue elaborada cada 15 días, siguiendo la misma formulación. La dieta control fue proporcionada de la manera tradicional, ofreciendo a los reproductores sardina, calamar y langostilla siguiendo la misma proporción que la dieta experimental. Después de dos horas cada tanque fue limpiado retirando excretas y desechos de alimento. Diariamente se llevó registro de temperatura, salinidad, oxígeno y una vez a la semana registro de amonio y parásitos.

6.6. *Análisis bioquímicos en plasma.*

Para la toma de muestras de sangre y biometrías, los peces fueron anestesiados con MS-222 (100 mg L⁻¹), la toma de sangre se realizó por punción caudal, mediante jeringas heparinizadas. La sangre para los análisis bioquímicos, se centrifugó a 4100 g por 10 minutos a 4°C, el plasma obtenido fue separado de la fracción celular y guardado en tubos eppendorf a -80°C hasta posteriores análisis. Parte de las muestras fueron almacenadas como sangre total para su posterior liofilización.

6.6.1. Colesterol

El colesterol fue determinado por un kit de colorimetría, en el cual se basa en una hidrólisis enzimática y de oxidación. El indicador quinoneimina es formado por peróxido de hidrógeno y 4-aminoantipirina en la presencia de fenol y peroxidasa. Al igual que en la determinación de triglicéridos, la determinación es en microplaca, en donde se colocaron 20 μL de muestra, diluida 1:4, se les adiciono 200 μL de la solución reactiva, se incubaron 15 minutos y se leyó a 490 nm.

6.6.2. Triglicéridos

Para la determinación de triglicéridos se utilizo un kit de los laboratorios RANDOX, el cual se basa en el método GPO-PAP. Los triglicéridos se determinan tras hidrólisis enzimática con lipasas. El indicador es una quinoneimina formada a partir peróxido de hidrógeno, 4-amino-fenazona y 4-clorofenol bajo la influencia catalítica de peroxidasa. La muestra puede ser suero, plasma heparinizado o EDTA plasma. Se colocaron 20 μL de las muestras, diluidas 1:4, en los pozos de una microplaca, se les adiciono 200 μL de solución reactiva se incubaron por 20 min y se leyó a 490 nm.

6.6.3. Lípidos totales.

Se utilizó el método de la sulfosfosvainillina, el cual depende de la reacción de los lípidos con el ácido sulfúrico, ácido fosfórico y vainillina para formar un complejo rojo. La solución estándar es colesterol en etanol (Barnes y Blackstock., 1973). Para la determinación de lípidos totales, se tomaron 25 μL de la muestra y se colocaron en un tubo de vidrio, se agregaron 250 μL de ácido sulfúrico concentrado, se calentaron las muestras a 90 °C en baño maría por 10 minutos, posteriormente se enfriaron en baño de hielo y se

agitaron para tomar 20 μL ponerlos en los pozos de una microplaca y adicionamos 200 μL de reactivo vainillina, se incubaron por 40 minutos y se leyó a 540 nm.

Las lecturas para la determinación de colesterol, triglicéridos y lípidos totales se hicieron en un lector de microplacas Biorad 550.

6.6.5. Proteínas

La determinación de la concentración de proteínas plasmáticas totales se realizó por el método de Biuret (kit RANDOX). El principio de este método se basa en la interacción de los iones cúpricos, con los enlaces péptidos de las proteínas, en un medio alcalino formando un complejo coloreado; se puede emplear para la determinación suero, plasma heparinizado o EDTA plasma. Para esto se colocaron 10 μL de las muestras en los pocillos de una microplaca y se les adicionó 200 μL del reactivo de Biuret y se leyó a 540 nm. El método presenta una linealidad hasta 13 $\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$ o 130 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

6.6.6. Cortisol

El cortisol plasmático fue determinado con un kit de inmunoensayo enzimático DRG cortisol (catálogo EIA-1887). El cual se basa en un ensayo en fase sólida de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA), basado en un principio de unión competitiva. Un anticuerpo monoclonal recubre los pocillos de las placas el cual está dirigido contra un foco antigénico en la molécula del cortisol. Las muestras cortisol compiten con un conjugado cortisol-peroxidasa de rábano en la unión al anticuerpo inmovilizado. Después de la incubación el conjugado no unido se lava. La cantidad de conjugado de peroxidasa unido es inversamente proporcional a la concentración de cortisol en la muestra. La intensidad del color desarrollada, después de la adición de la solución sustrato, es inversamente

proporcional a la concentración de cortisol en la muestra. (DRG Instruments GmbH, Germany).

6.6.7. Ácidos grasos

Los ácidos grasos fueron medidos por el método de transesterificación directa (Lepage y Roy., 1986) el cual ha sido utilizado en diferentes matrices biológicas para muestras pequeñas (Barnung y Grahl-Nielsen., 1987). Las muestras se colocaron en el fondo de un tubo, se agregó 0.5 mL de ácido clorhídrico metanólico. Los tubos fueron cerrados fuertemente y se calentaron a 90°C por dos horas, una vez enfriados a temperatura ambiente el exceso de ácido clorhídrico se eliminó con nitrógeno gaseoso por tres minutos. Después se agregó 2 mL de hexano y 0.5 mL de agua. Se agitó suavemente el tubo para mezclar y se colectó la capa de hexano después de una centrifugación corta. Se agregaron otros 2 mL antes del análisis por cromatografía, el extracto final fue concentrado por evaporación con nitrógeno.

6.7. Análisis bioquímicos en tejido de reproductores silvestres.

Para los análisis en gónada e hígado se liofilizaron los tejidos y se pulverizaron. Posteriormente se pesó 0.1 g de la muestra en un tubo eppendorf y se le adicionó SIC (aproximadamente 1 mL) para hidratar el tejido. Se homogenizó y tomó una alícuota de 20 µL de la muestra para determinar colesterol, triglicéridos y lípidos totales como se describe para plasma (ver apartado 6.6.1 al 6.6.3). Para la determinación de proteínas totales se hidrolizó la muestra con hidróxido de sodio 0.1 N (10 µL del homogenizado + 90 µL de NaOH), por dos horas. Inmediatamente se recuperan 10 µL, previa agitación, y se colocan en un pozo de una microplaca. La cantidad de proteínas totales se determinó por el método

descrito por Bradford (1976), el cual estada basado en la formación de un complejo formado por la proteína y el azul de Coomassie G-250, leyendo a una absorbancia de 595 nm. Para esto a los 10 μ L de muestra se les adicionó 1 mL de reactivo de Bradford se agitaron y se leyeron en un lector de microplacas a 595 nm.

6.7.1. Ácidos Grasos de gónada e hígado.

Contrario a la determinación hecha en sangre, la cual se realizó por transesterificación directa sin extracción previa la extracción de lípidos de gónada e hígado se realizó de acuerdo al método modificado de Bligh y Dyer (1959), metodología descrita arriba (ver apartado 6.3.2 perfil de ácidos grasos)

6.8. *Análisis estadístico*

Se aplicaron pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov a los datos. La prueba de Levene para determinar homogeneidad de variancia. Las medias fueron separadas por medio de la prueba a posteriori de Tukey. Para el análisis de ácidos grasos, se convirtieron estos aplicando el arcosen del porcentaje, para poder ser tratados estadísticamente. Para los estadísticos se utilizó el programa SPSS.15 para los datos de colesterol, triglicéridos, lípidos totales y proteínas y Statistica.7 para el análisis de ácidos grasos. Las gráficas y tablas se realizaron con los programas SigmaPlot 10.0 y Excel 2007.

7. Resultados

Los reproductores en cautiverio fueron muestreados durante un ciclo anual en las cuatro estaciones del año primavera, verano otoño e invierno, promediando al final del experimento los parámetros biométricos (Tabla VI). Los reproductores silvestres por la falta de su disponibilidad solo fue posible muestrearlos durante la época reproductiva natural, la cual se registró a finales de verano, otoño y principios de invierno, los valores obtenidos de concentración de proteínas, lípidos totales, triglicéridos, colesterol fueron promediados por sexo (Fig. 1 y Fig.2), así como los valores obtenidos de cortisol (Fig.3) y la composición de ácidos grasos (Fig. 4, tabla VI y VII).

7.1. Parámetros biométricos

El peso inicial fue registrado al inicio del experimento, cuando se proporcionaron las dietas experimental y control (Dexp y Dcon respectivamente), y al final (Tabla VI), en donde se observa que la ganancia de peso en las hembras alimentadas con la Dexp tuvieron un incremento de 950 g, mientras que las alimentadas con la Dcon aumentaron 491 g; en los machos en ambas dietas se observó una ganancia en peso similar. En cuanto a la longitud final, podemos observar que las hembras alimentadas con la Dexp aumentaron 7.50 cm, en relación a las hembras alimentadas con la Dcon que solo aumentaron 2.83 cm (Tabla VI). En los machos no se observa una diferencia notable. En relación a la longitud patrón (LP), las hembras alimentadas con la Dexp incrementaron más la talla que las hembras alimentadas con la Dcon, en los machos alimentados con la Dexp si se observa una pequeña diferencia en relación a los que fueron alimentados con la dieta control. El FCA (factor de condición alimenticio) fue mejor en la Dexp de 10.42 que en la Dcon de 12.76. y la mayor sobrevivencia se registró en los peces alimentados con la Dexp con respecto a la Dcon. Se observó un mejor aspecto en los reproductores alimentados con la Dexp, presentando en general una mejor coloración y apariencia física.

Tabla VI. Variables de incremento de peso, talla, de los reproductores durante el experimento.

Factor	Dieta Control		Dieta experimental	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
peso inicial (g)	1658.33	1983.33	2041.67	2150.00
peso final (g)	2450.00	2475.00	2783.33	3100.00
ganancia (g)	791.67	491.67	741.67	950.00
LT inicial (cm)	45.00	46.67	48.50	49.00
LT final (cm)	51.33	49.50	54.25	56.50
incremento (cm)	6.33	2.83	5.75	7.50
LP inicial (cm)	39.33	41.67	42.83	42.50
LP final (cm)	44.67	42.50	46.67	47.75
incremento (cm)	5.33	0.83	3.83	5.25
FCA	12.76		10.42	
Sobreviviencia (%)	70		100	

7.2. Variables bioquímicas en plasma

7.2.1. COL, TG, LT y PROT

En cuanto a los resultados de los parámetros bioquímicos, las figuras 1 y 2 muestran los cambios estacionales obtenidos en el plasma en cuanto al colesterol (COL mg·dL⁻¹), triglicéridos (TG mg·dL⁻¹), lípidos totales (LT g·dL⁻¹) y proteínas totales (PROT g·dL⁻¹) tanto para hembras y machos alimentados con ambas dietas (Dexp y Dcon), así como las concentraciones obtenidas para reproductores silvestres (RS). Los niveles mas altos para COL se presentaron en otoño en la Dexp (393.75±23.41), este fue significativamente mayor (p<0.05) para el mismo periodo de la Dcon (261.79±28.67) y hembras silvestres (305.69±14.73). Registrándose la concentración menor en invierno para ambas dietas (277.07±28.67 y 201.07±23.41), Dcon y Dexp respectivamente. Los TG fueron más altos en verano (308.38±25.49) para la Dexp y durante el otoño en la Dcon (310.51±29.44) mientras que los RS mostraron niveles significativamente mayores (p<0.05) en otoño con respectó a los mantenidos en cautiverio (645.74±34.10; Fig. 1). El contenido mayor de LT

se registró en primavera para la Dexp (1.93 ± 0.09) y en verano (1.74 ± 0.10) para la Dcon; observándose un decremento, similar, en las estaciones posteriores (otoño e invierno). No se presentaron diferencias significativas entre los RS y los mantenidos en cautiverio durante el muestreo de otoño. Los niveles de proteínas totales (PROT) plasmáticas fueron mas variables en la Dexp. Se observaron diferencias significativas ($p=0.023$) en verano e invierno entre la Dexp y la Dcon, con valores para el verano (2.96 ± 0.21 y 4.58 ± 0.17) y durante el invierno (4.26 ± 0.17 y 5.47 ± 0.21) Dexp y Dcon respectivamente. No se observaron diferencias entre la Dexp (4.27 ± 0.17), la Dcon (4.71 ± 0.21) y los RS (4.82 ± 0.12) en el otoño (Fig. 1).

Se observaron diferencias ($p=0.035$) estacionales en la concentración de COL; observándose que en los machos (Fig. 2) estuvieron mas altos en otoño para la Dexp (386.56 ± 23.41) y la Dcon (436.73 ± 23.41). No se observaron diferencias para la misma estación entre ambas dietas con los RS (350.21 ± 17.43). Durante el verano la Dcon (415.32 ± 20.27) fue mayor ($p<0.05$), en el contenido de COL plasmático, que la Dexp (348.06 ± 20.27). Se observaron diferencias estacionales ($p=0.015$) y entre dietas ($p=0.004$) para TG, presentándose valores mas altos en otoño en la Dcon (386.88 ± 29.44) y Dexp (318.47 ± 29.44). Los RS mostraron diferencias en otoño (369.07 ± 40.35) con respecto a la Dexp (154.92 ± 24.44) y Dcon (190.98 ± 25.49). Los LT presentaron sus máximos durante el verano (1.76 ± 0.09 y 2.33 ± 0.09) Dexp y Dcon respectivamente, siendo esta ultima mayor ($p<0,05$) que la primera. Se observaron diferencias entre dietas ($p=0.023$) en las PROT durante verano (3.78 ± 0.15 y 4.88 ± 0.15) y otoño (4.29 ± 0.17 y 3.23 ± 0.15) Dexp y Dcon respectivamente. El contenido de PROT fue mayor en otoño en los RS (4.95 ± 0.15), con respecto a la Dexp y Dcon (Fig. 2).

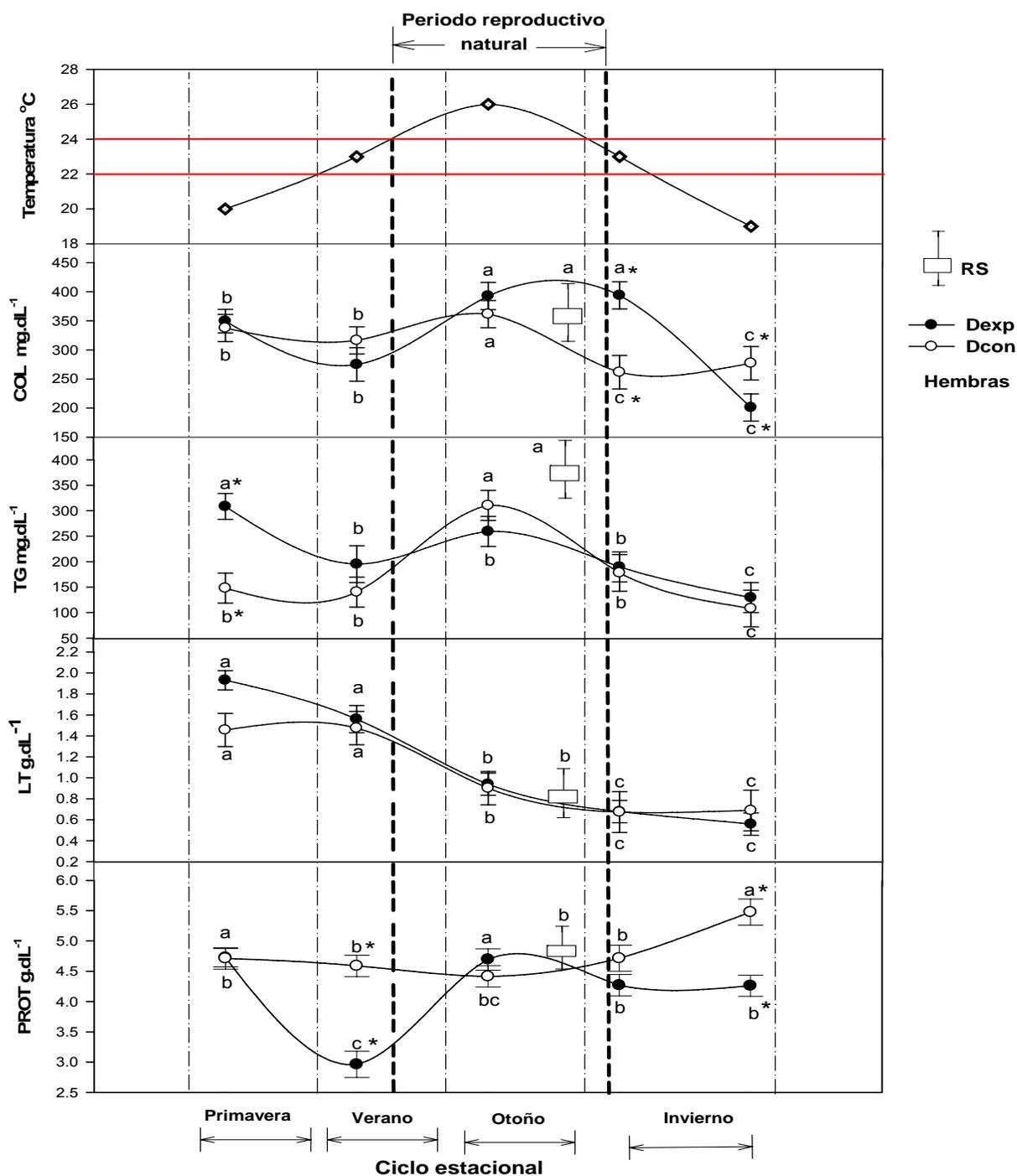


Figura 1. Cambios bioquímicos estacionales de colesterol, triglicéridos, lípidos totales y proteínas del plasma de reproductores hembras de *Lutjanus peru* en cautiverio y reproductores hembras silvestres (RS), comparando una dieta experimental (Dexp) y una dieta control (Dcon), bajo una simulación estacional de temperatura. Las diferentes letras indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) estacional en cada dieta y las marcas de asteriscos (*) indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas estacionalmente. (media \pm ES).

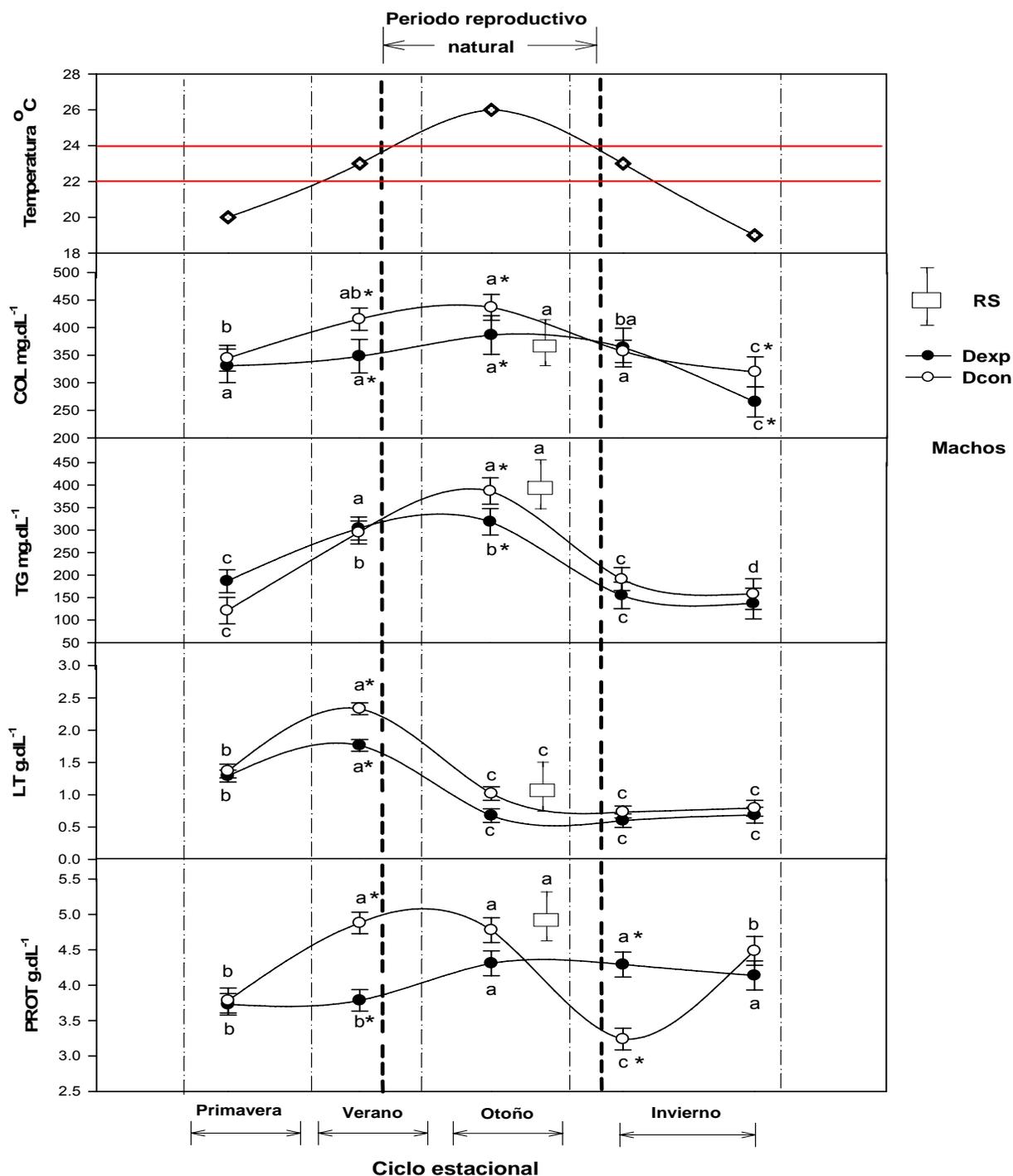


Figura 2. Cambios bioquímicos estacionales de colesterol, triglicéridos, lípidos totales y proteínas del plasma de reproductores machos de *Lutjanus peru* en cautiverio y reproductores hembras silvestres (RS), comparando una dieta experimental (Dexp) y una dieta control (Dcon), bajo una simulación estacional de temperatura. Las diferentes letras indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) estacional en cada dieta y las marcas de asteriscos (*) indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas estacionalmente. (media \pm ES).

7.2.2. Cortisol

Se observaron cambios estacionales y entre dietas ($p < 0.05$) en la concentración de cortisol plasmático (**Fig. 3**), presentándose el nivel más alto en la Dexp durante el otoño (74.81 ± 10.61) y en verano para la Dcon (69.42 ± 10.61). Los niveles menores se observaron en invierno (17.04 ± 9.18) y en otoño (12.44 ± 11.62), Dexp y Dcon respectivamente. Diferencias significativas entre las dietas se observaron en verano y otoño siendo mayor la concentración de cortisol en la Dcon durante el verano con respecto a la Dexp, y de esta última en otoño en comparación con la Dcon.

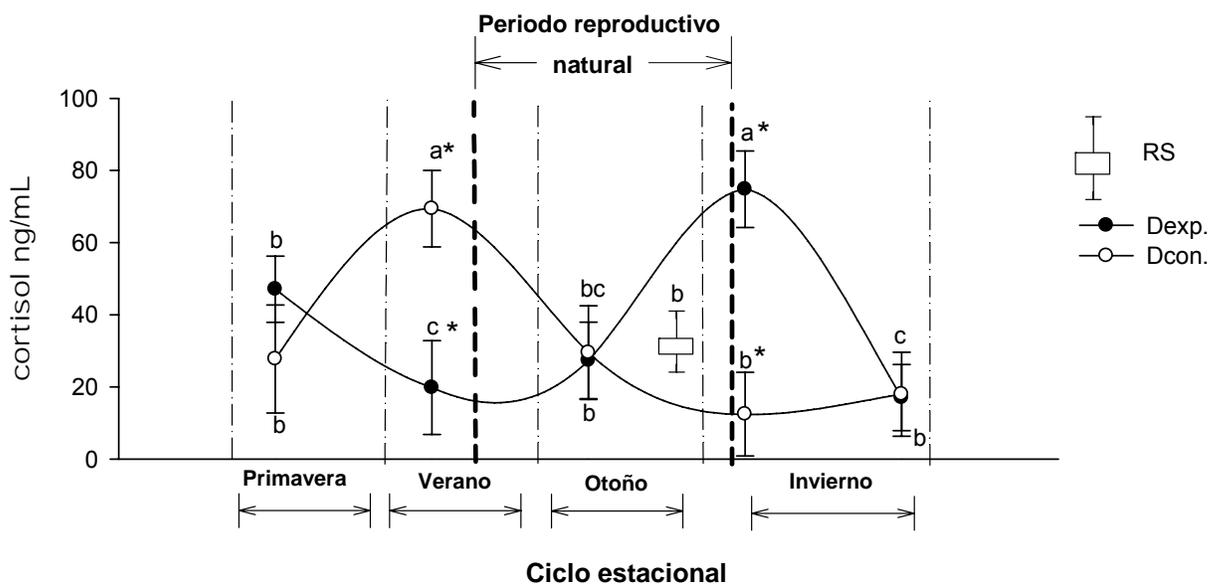


Figura 3. Cambios estacionales en la concentración de cortisol del plasma de reproductores (machos y hembras), de *Lutjanus peru* y reproductores silvestres (RS), comparando una dieta experimental (Dexp) y una dieta control (Dcon), bajo una simulación estacional de temperatura. Las diferentes letras indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) estacional en cada dieta y las marcas de asteriscos (*) indican la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas estacionalmente. (media \pm ES).

7.2.3. Ácidos grasos en sangre

Las Tablas VII y VIII muestran los cambios estacionales en la concentración (media % \pm intervalo de confianza 95%) de ácidos grasos (AG), en sangre de hembras y machos mantenidos en cautiverio. El nivel más alto de 18:2 n6 se observó durante el otoño (0.73 ± 0.12) en las hembras de la Dexp ($p < 0.05$) registrándose el más bajo en primavera en la Dcon (0.40 ± 0.08) como se observa en la Tabla VII. No se observaron diferencias significativas entre estaciones para el 18:3 n3. Los valores más altos para el 20:4 n6 y 22:6 n3 (4.68 ± 1.74 y 27.82 ± 3.40), se presentaron en otoño y en invierno para el 20:5 n3 (16.12 ± 4.51) en la Dcon. En los totales de AG no se observaron diferencias significativas, salvo en las relaciones ARA/EPA (0.53 ± 0.09) y EPA/DHA (0.73 ± 0.21) las cuales fueron mayores en la Dcon durante otoño e invierno respectivamente.

En los machos (Tabla VIII), el 18:2 n6 fue más alto durante el otoño en la Dexp (0.88 ± 0.26), presentándose en primavera e invierno los valores más bajos en la Dcon (0.39 ± 0.17 y 0.39 ± 0.09). No se observaron diferencias significativas en el 18:3 n3 entre dietas por estación, al igual que en el 20:4 n6. Mientras que en la Dcon se presentó el valor más alto en invierno (14.23 ± 1.73), y el más bajo en otoño (7.04 ± 1.41), para el 20:5 n3. En el caso del 22:6 n3 los valores más altos se presentaron en otoño para la Dcon y Dexp (28.17 ± 5.31 y 24.47 ± 5.0). La sumatoria de los AG poliinsaturados fue mayor para la Dcon durante el otoño e invierno (53.12 ± 4.0 y 52.86 ± 3.49) y en invierno para la Dexp (48.04 ± 3.44). Al igual que en la sumatoria de n3 en la que se registraron durante el invierno los valores más altos (46.78 ± 3.91 y 40.13 ± 3.79), para la Dcon y Dexp respectivamente. Las relaciones ARA/EPA, ARA/DHA y EPA/DHA tuvieron sus máximos en otoño e invierno para ambas dietas.

Tabla VII. Composición de ácidos grasos (%), en sangre de hembras de *Lutjanus peru* alimentadas con una dieta control y una dieta experimental enriquecida con ácidos grasos.

FAME	Dieta Control				Dieta Experimental			
	Primavera	verano	otoño	invierno	Primavera	verano	otoño	invierno
14:0	2.05 ± 0.44 ^{ab}	1.65 ± 0.39 ^{ab}	1.40 ± 0.42 ^b	1.8 ± 0.47 ^{ab}	2.09 ± 0.44 ^{ab}	2.76 ± 1.02 ^a	1.89 ± 0.49 ^{ab}	1.50 ± 0.53 ^{ab}
iso 14:0	0.03 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.04 ^a	0.05 ± 0.04 ^a	0.02 ± 0.02 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.08 ^a	0.07 ± 0.04 ^a	0.02 ± 0.03 ^a
15:0	0.17 ± 0.05 ^b	0.31 ± 0.07 ^a	0.36 ± 0.08 ^a	0.16 ± 0.05 ^b	0.32 ± 0.07 ^a	0.40 ± 0.15 ^a	0.44 ± 0.09 ^a	0.16 ± 0.07 ^b
iso 15:0	0.02 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	0.03 ± 0.03 ^a	0.01 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.03 ^a	0.03 ± 0.05 ^a	0.03 ± 0.03 ^a	0.01 ± 0.02 ^a
16:0	16.78 ± 2.32 ^a	18.19 ± 2.41 ^a	18.97 ± 2.83 ^a	17.17 ± 2.70 ^a	18.82 ± 2.44 ^a	19.82 ± 5.00 ^a	21.65 ± 3.01 ^a	17.59 ± 3.35 ^a
16:1 n9	0.70 ± 0.17 ^a	0.55 ± 0.15 ^a	0.49 ± 0.16 ^a	0.46 ± 0.16 ^a	0.62 ± 0.16 ^a	0.54 ± 0.30 ^a	0.60 ± 0.18 ^a	0.57 ± 0.22 ^a
16:1 n7	3.16 ± 0.66 ^a	2.91 ± 0.64 ^a	3.00 ± 0.75 ^a	2.73 ± 0.71 ^a	3.25 ± 0.67 ^a	4.03 ± 1.50 ^a	3.33 ± 0.78 ^a	2.57 ± 0.85 ^a
iso 16:0	0.32 ± 0.11 ^a	0.14 ± 0.07 ^{ab}	0.09 ± 0.07 ^b	0.07 ± 0.06 ^b	0.13 ± 0.07 ^{ab}	0.09 ± 0.12 ^b	0.09 ± 0.07 ^b	0.05 ± 0.06 ^b
anteiso 16:0	0.02 ± 0.03 ^b	0.44 ± 0.16 ^a	0.52 ± 0.20 ^a	0.32 ± 0.16 ^a	0.32 ± 0.14 ^a	0.53 ± 0.35 ^a	0.44 ± 0.18 ^a	0.28 ± 0.18 ^a
17:0	0.45 ± 0.09 ^{cd}	0.63 ± 0.11 ^{bc}	0.89 ± 0.15 ^{ab}	0.33 ± 0.09 ^d	0.65 ± 0.11 ^{bc}	0.80 ± 0.24 ^{ab}	1.00 ± 0.16 ^a	0.44 ± 0.13 ^{cd}
17:1 n7	0.19 ± 0.05 ^a	0.18 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.06 ^a	0.23 ± 0.07 ^a	0.16 ± 0.05 ^a	0.29 ± 0.13 ^a	0.19 ± 0.06 ^a	0.21 ± 0.08 ^a
18:0	11.73 ± 4.42 ^a	12.86 ± 4.62 ^a	15.32 ± 5.81 ^a	5.68 ± 3.57 ^a	12.37 ± 4.54 ^a	12.35 ± 9.04 ^a	15.03 ± 5.75 ^a	12.15 ± 6.36 ^a
18:1 n9	15.12 ± 2.90 ^a	12.11 ± 2.60 ^a	11.99 ± 2.99 ^a	12.08 ± 3.00 ^a	13.26 ± 2.72 ^a	14.76 ± 5.72 ^a	13.72 ± 3.19 ^a	14.30 ± 3.99 ^a
18:1 n7	3.39 ± 1.50 ^a	3.97 ± 1.63 ^a	4.33 ± 1.96 ^a	6.13 ± 2.33 ^a	3.63 ± 1.56 ^a	3.81 ± 3.19 ^a	4.19 ± 1.93 ^a	3.00 ± 2.00 ^a
18:2 n9*	0.73 ± 0.35 ^a	0.45 ± 0.28 ^a	0.28 ± 0.25 ^a	0.17 ± 0.20 ^a	0.35 ± 0.25 ^a	0.38 ± 0.51 ^a	0.51 ± 0.34 ^a	0.30 ± 0.32 ^a
18:2 n6	0.40 ± 0.08 ^c	0.53 ± 0.09 ^{abc}	0.67 ± 0.12 ^{ab}	0.42 ± 0.09 ^{bc}	0.56 ± 0.09 ^{abc}	0.53 ± 0.18 ^{abc}	0.73 ± 0.12 ^a	0.48 ± 0.12 ^{abc}
19:0	0.23 ± 0.11 ^a	0.32 ± 0.13 ^a	0.48 ± 0.18 ^a	0.31 ± 0.14 ^a	0.26 ± 0.12 ^a	0.34 ± 0.26 ^a	0.40 ± 0.17 ^a	0.26 ± 0.16 ^a
18:3 n3	0.10 ± 0.03 ^a	0.12 ± 0.04 ^a	0.14 ± 0.05 ^a	0.11 ± 0.04 ^a	0.15 ± 0.04 ^a	0.14 ± 0.08 ^a	0.16 ± 0.05 ^a	0.11 ± 0.05 ^a
18:4 n3	0.22 ± 0.09 ^a	0.25 ± 0.10 ^a	0.25 ± 0.11 ^a	0.20 ± 0.10 ^a	0.19 ± 0.09 ^a	0.24 ± 0.20 ^a	0.23 ± 0.11 ^a	0.20 ± 0.13 ^a
20:0	0.45 ± 0.15 ^a	0.54 ± 0.16 ^a	0.54 ± 0.18 ^a	0.28 ± 0.13 ^a	0.46 ± 0.15 ^a	0.53 ± 0.32 ^a	0.48 ± 0.17 ^a	0.23 ± 0.15 ^a
20:1 n9	0.93 ± 0.26 ^a	0.56 ± 0.20 ^a	0.89 ± 0.29 ^a	0.82 ± 0.28 ^a	0.85 ± 0.25 ^a	1.03 ± 0.54 ^a	0.92 ± 0.30 ^a	0.91 ± 0.36 ^a
20:2 n9	0.70 ± 0.46 ^a	0.27 ± 0.29 ^a	0.49 ± 0.44 ^a	0.79 ± 0.56 ^a	0.17 ± 0.23 ^a	0.34 ± 0.64 ^a	0.39 ± 0.39 ^a	0.52 ± 0.56 ^a
20:2 n6	0.27 ± 0.39 ^a	0.31 ± 0.42 ^a	0.23 ± 0.42 ^a	0.48 ± 0.60 ^a	0.24 ± 0.37 ^a	0.09 ± 0.45 ^a	0.19 ± 0.38 ^a	0.85 ± 0.99 ^a
20:3 n6	0.14 ± 0.26 ^a	0.23 ± 0.34 ^a	0.97 ± 0.82 ^a	0.12 ± 0.28 ^a	0.36 ± 0.43 ^a	0.12 ± 0.50 ^a	0.63 ± 0.66 ^a	0.21 ± 0.46 ^a
21:0	0.08 ± 0.13 ^b	0.19 ± 0.20 ^b	0.46 ± 0.36 ^b	0.29 ± 0.29 ^b	0.27 ± 0.24 ^b	0.09 ± 0.28 ^b	0.19 ± 0.23 ^b	1.52 ± 0.81 ^a
20:4 n6	3.98 ± 1.39 ^a	4.24 ± 1.43 ^a	4.68 ± 1.74 ^a	2.51 ± 1.27 ^a	3.83 ± 1.36 ^a	3.14 ± 2.47 ^a	4.14 ± 1.64 ^a	3.38 ± 1.81 ^a
20:3 n3	0.04 ± 0.22 ^a	0.03 ± 0.19 ^a	0.06 ± 0.29 ^a	0.31 ± 0.68 ^a	0.03 ± 0.19 ^a	0.02 ± 0.30 ^a	0.63 ± 0.96 ^a	0.01 ± 0.15 ^a
20:4 n3	0.31 ± 0.12 ^a	0.36 ± 0.13 ^a	0.43 ± 0.17 ^a	0.43 ± 0.17 ^a	0.28 ± 0.12 ^a	0.25 ± 0.22 ^a	0.37 ± 0.16 ^a	0.41 ± 0.20 ^a
20:5 n3	11.25 ± 3.29 ^{ab}	11.29 ± 3.29 ^{ab}	9.47 ± 3.49 ^{ab}	16.12 ± 4.51 ^a	10.55 ± 3.18 ^{ab}	8.76 ± 5.81 ^{ab}	8.56 ± 3.32 ^{ab}	11.57 ± 4.71 ^{ab}
22:0	0.49 ± 0.63 ^a	0.51 ± 0.65 ^a	0.54 ± 0.76 ^a	0.43 ± 0.68 ^a	0.46 ± 0.61 ^a	0.59 ± 1.38 ^a	2.22 ± 1.55 ^a	0.46 ± 0.87 ^a
23:0	0.09 ± 0.08 ^a	0.13 ± 0.10 ^a	0.14 ± 0.12 ^a	0.08 ± 0.09 ^a	0.04 ± 0.06 ^a	0.14 ± 0.21 ^a	0.09 ± 0.10 ^a	0.10 ± 0.12 ^a
22:3 n3	0.97 ± 0.23 ^{ab}	0.89 ± 0.22 ^{ab}	1.08 ± 0.28 ^a	0.47 ± 0.18 ^b	0.96 ± 0.23 ^{ab}	0.47 ± 0.32 ^b	0.80 ± 0.24 ^{ab}	0.70 ± 0.28 ^{ab}
22:5 n3	2.20 ± 0.80 ^a	2.16 ± 0.80 ^a	2.39 ± 0.97 ^a	2.59 ± 1.01 ^a	2.16 ± 0.80 ^a	1.92 ± 1.50 ^a	2.33 ± 0.96 ^a	2.57 ± 1.23 ^a
24:0	ND	0.24 ± 0.11 ^a	0.35 ± 0.15 ^a	0.22 ± 0.12 ^a	0.28 ± 0.12 ^a	0.35 ± 0.27 ^a	0.33 ± 0.15 ^a	0.39 ± 0.20 ^a
22:6 n3	23.88 ± 2.75 ^{ab}	22.87 ± 2.70 ^{ab}	27.82 ± 3.40 ^a	22.71 ± 3.11 ^{ab}	22.81 ± 2.70 ^{ab}	21.68 ± 5.27 ^{ab}	21.50 ± 3.03 ^{ab}	22.19 ± 3.77 ^{ab}
24:1 n9	2.20 ± 0.32 ^a	2.39 ± 0.33 ^a	2.69 ± 0.41 ^a	2.82 ± 0.42 ^a	2.36 ± 0.33 ^a	2.64 ± 0.70 ^a	2.68 ± 0.41 ^a	2.81 ± 0.51 ^a
Σsaturados	34.47 ± 5.58 ^a	38.10 ± 5.79 ^a	42.08 ± 6.91 ^a	30.28 ± 6.11 ^a	38.62 ± 5.82 ^a	40.87 ± 11.80 ^a	45.19 ± 7.06 ^a	37.18 ± 8.10 ^a
Σmonosaturados	26.98 ± 4.64 ^a	23.84 ± 4.39 ^a	24.36 ± 5.12 ^a	27.47 ± 5.39 ^a	25.38 ± 4.51 ^a	28.61 ± 9.48 ^a	25.63 ± 5.23 ^a	25.61 ± 6.40 ^a
Σpoliinsaturados	49.42 ± 6.25 ^a	48.43 ± 6.22 ^a	53.12 ± 7.31 ^a	52.86 ± 7.30 ^a	46.50 ± 6.15 ^a	40.77 ± 11.77 ^a	40.20 ± 6.80 ^a	48.04 ± 8.76 ^a
Σramificados	0.43 ± 0.12 ^a	0.75 ± 0.16 ^a	0.68 ± 0.18 ^a	0.43 ± 0.14 ^a	0.57 ± 0.14 ^a	0.74 ± 0.32 ^a	0.62 ± 0.17 ^a	0.37 ± 0.16 ^a
Σn-3	41.40 ± 5.31 ^a	40.71 ± 5.28 ^a	44.03 ± 6.25 ^a	46.78 ± 6.35 ^a	39.50 ± 5.23 ^a	35.20 ± 9.99 ^a	33.88 ± 5.70 ^a	40.13 ± 7.42 ^a
Σn-6	5.84 ± 1.68 ^a	5.96 ± 1.70 ^a	6.81 ± 2.10 ^a	3.92 ± 1.59 ^a	5.52 ± 1.64 ^a	4.29 ± 2.89 ^a	5.59 ± 1.90 ^a	5.73 ± 2.36 ^a
ARA/EPA	0.36 ± 0.07 ^{ab}	0.39 ± 0.07 ^{ab}	0.53 ± 0.09 ^a	0.16 ± 0.05 ^c	0.37 ± 0.07 ^{ab}	0.37 ± 0.13 ^{abc}	0.49 ± 0.09 ^{ab}	0.30 ± 0.08 ^{abc}
ARA/DHA	0.18 ± 0.06 ^a	0.20 ± 0.07 ^a	0.22 ± 0.08 ^a	0.12 ± 0.06 ^a	0.18 ± 0.07 ^a	0.15 ± 0.12 ^a	0.23 ± 0.08 ^a	0.16 ± 0.09 ^a
EPA/DHA	0.49 ± 0.15 ^{ab}	0.51 ± 0.15 ^{ab}	0.43 ± 0.16 ^{ab}	0.73 ± 0.21 ^a	0.48 ± 0.15 ^{ab}	0.42 ± 0.28 ^{ab}	0.47 ± 0.17 ^{ab}	0.54 ± 0.22 ^{ab}

Cada valor representa la media ± intervalo de confianza de 95%. Valores con letras distintas son significativamente diferentes de cada uno de los otros (p<0.05). ND, no detectado.*ácido graso no identificado con 100% de seguridad, al no haber estándar para comparar su espectro de masas.

Tabla VIII. Composición de ácidos grasos (%), en sangre de machos de *Lutjanus peru* alimentadas con una dieta control y una dieta experimental enriquecida con ácidos grasos.

FAME	Dieta Control				Dieta Experimental			
	primavera	verano	otoño	invierno	primavera	verano	otoño	invierno
14:0	1.94 ± 0.69 ^{ab}	1.20 ± 0.54 ^b	1.52 ± 0.35 ^a	1.81 ± 0.33 ^b	1.97 ± 0.34 ^{ab}	1.97 ± 0.34 ^{ab}	2.90 ± 0.84 ^a	1.56 ± 0.31 ^b
iso 14:0	0.04 ± 0.04 ^{ab}	0.09 ± 0.07 ^{ab}	0.05 ± 0.03 ^{ab}	0.03 ± 0.02 ^b	0.15 ± 0.04 ^a	0.12 ± 0.04 ^{ab}	0.07 ± 0.06 ^{ab}	0.03 ± 0.02 ^b
15:0	0.22 ± 0.12 ^{bc}	0.37 ± 0.15 ^{abc}	0.44 ± 0.10 ^{ab}	0.20 ± 0.06 ^c	0.32 ± 0.07 ^{abc}	0.36 ± 0.07 ^{abc}	0.56 ± 0.19 ^a	0.17 ± 0.05 ^c
iso 15:0	0.02 ± 0.02 ^b	0.07 ± 0.04 ^a	0.05 ± 0.02 ^{ab}	0.01 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^{ab}	0.04 ± 0.01 ^{ab}	0.04 ± 0.03 ^{ab}	0.02 ± 0.01 ^b
16:0	17.35 ± 4.19 ^a	15.40 ± 3.96 ^a	20.66 ± 2.63 ^a	16.85 ± 2.07 ^a	18.63 ± 2.17 ^a	18.90 ± 2.18 ^a	18.73 ± 2.51 ^a	17.62 ± 2.11 ^a
16:1 n9	0.77 ± 0.23 ^a	0.49 ± 0.19 ^a	0.66 ± 0.13 ^a	0.43 ± 0.09 ^a	0.56 ± 0.10 ^a	0.51 ± 0.10 ^a	0.62 ± 0.12 ^a	0.57 ± 0.10 ^a
16:1 n7	2.59 ± 0.68 ^b	2.33 ± 0.65 ^b	2.88 ± 0.41 ^b	2.84 ± 0.36 ^b	2.89 ± 0.36 ^b	3.26 ± 0.38 ^b	5.14 ± 0.96 ^a	2.74 ± 0.35 ^b
iso 16:0	0.44 ± 0.14 ^a	0.13 ± 0.08 ^b	0.07 ± 0.03 ^b	0.08 ± 0.03 ^b	0.09 ± 0.03 ^b	0.10 ± 0.03 ^b	0.10 ± 0.07 ^b	0.06 ± 0.03 ^b
anteiso 16:0	ND	0.29 ± 0.25 ^a	0.58 ± 0.20 ^a	0.36 ± 0.14 ^a	0.29 ± 0.12 ^a	0.41 ± 0.15 ^a	0.44 ± 0.18 ^a	0.29 ± 0.13 ^a
17:0	0.57 ± 0.25 ^{ab}	0.45 ± 0.22 ^b	1.03 ± 0.19 ^a	0.48 ± 0.11 ^b	0.61 ± 0.13 ^{ab}	0.79 ± 0.15 ^{ab}	1.00 ± 0.33 ^a	0.43 ± 0.11 ^b
17:1 n7	0.12 ± 0.07 ^{bc}	0.09 ± 0.07 ^c	0.25 ± 0.06 ^b	0.18 ± 0.05 ^{bc}	0.16 ± 0.04 ^{bc}	0.21 ± 0.05 ^{bc}	0.43 ± 0.14 ^a	0.22 ± 0.05 ^{bc}
18:0	12.18 ± 1.94 ^{bcd}	9.53 ± 1.72 ^d	15.42 ± 1.26 ^a	10.45 ± 0.90 ^{cd}	12.02 ± 0.96 ^{bcd}	12.59 ± 0.99 ^{bc}	13.65 ± 1.18 ^{ab}	11.40 ± 0.94 ^{bcd}
18:1 n9	14.75 ± 3.69 ^a	9.09 ± 2.91 ^b	13.35 ± 2.03 ^{ab}	10.82 ± 1.59 ^{ab}	11.59 ± 1.64 ^{ab}	11.56 ± 1.64 ^{ab}	14.05 ± 3.60 ^{ab}	13.20 ± 1.75 ^{ab}
18:1 n7	3.08 ± 0.49 ^b	3.60 ± 0.53 ^{ab}	4.22 ± 0.33 ^a	3.08 ± 0.25 ^b	3.26 ± 0.25 ^b	3.83 ± 0.28 ^{ab}	4.26 ± 0.58 ^a	3.14 ± 0.25 ^b
18:2 n9*	0.76 ± 0.54 ^a	0.54 ± 0.45 ^a	0.33 ± 0.20 ^a	0.46 ± 0.21 ^a	0.25 ± 0.15 ^a	0.16 ± 0.12 ^a	0.44 ± 0.24 ^a	0.60 ± 0.24 ^a
18:2 n6	0.39 ± 0.17 ^c	0.79 ± 0.25 ^{ab}	0.63 ± 0.13 ^{abc}	0.39 ± 0.09 ^c	0.50 ± 0.10 ^{bc}	0.59 ± 0.11 ^{abc}	0.88 ± 0.26 ^a	0.48 ± 0.10 ^{bc}
19:0	0.24 ± 0.10 ^c	0.30 ± 0.11 ^{abc}	0.49 ± 0.08 ^a	0.26 ± 0.05 ^c	0.31 ± 0.05 ^{abc}	0.34 ± 0.06 ^{abc}	0.45 ± 0.13 ^{ab}	0.27 ± 0.05 ^{bc}
18:3 n3	0.10 ± 0.29 ^a	0.32 ± 0.53 ^a	0.14 ± 0.20 ^a	0.09 ± 0.14 ^a	0.36 ± 0.28 ^a	0.16 ± 0.19 ^a	0.30 ± 0.51 ^a	0.10 ± 0.15 ^a
18:4 n3	0.15 ± 0.42 ^a	0.42 ± 0.71 ^a	0.21 ± 0.28 ^a	0.28 ± 0.29 ^a	0.54 ± 0.40 ^a	0.25 ± 0.27 ^a	0.44 ± 0.72 ^a	0.22 ± 0.25 ^a
20:0	0.40 ± 0.11 ^b	4.94 ± 0.38 ^a	0.46 ± 0.07 ^b	0.44 ± 0.06 ^b	0.43 ± 0.06 ^b	0.49 ± 0.06 ^b	0.55 ± 0.13 ^b	0.48 ± 0.06 ^b
20:1 n9	1.05 ± 0.31 ^{ab}	0.76 ± 0.26 ^b	1.02 ± 0.17 ^{ab}	1.29 ± 0.17 ^a	0.82 ± 0.14 ^{ab}	0.96 ± 0.15 ^{ab}	1.28 ± 0.34 ^a	0.92 ± 0.14 ^{ab}
20:2 n9	0.70 ± 0.74 ^a	0.21 ± 0.40 ^a	0.28 ± 0.27 ^a	0.77 ± 0.39 ^a	0.32 ± 0.25 ^a	0.21 ± 0.20 ^a	0.45 ± 0.59 ^a	0.91 ± 0.42 ^a
20:2 n6	0.07 ± 0.15 ^a	0.19 ± 0.25 ^a	0.13 ± 0.12 ^a	0.07 ± 0.07 ^a	0.08 ± 0.08 ^a	0.11 ± 0.09 ^a	0.20 ± 0.25 ^a	0.07 ± 0.07 ^a
20:3 n6	0.11 ± 0.51 ^a	0.28 ± 0.80 ^a	0.46 ± 0.59 ^a	0.17 ± 0.31 ^a	0.09 ± 0.22 ^a	0.43 ± 0.49 ^a	0.23 ± 0.42 ^a	0.19 ± 0.33 ^a
21:0	0.09 ± 0.70 ^a	0.12 ± 0.81 ^a	0.52 ± 0.96 ^a	0.96 ± 1.13 ^a	0.47 ± 0.79 ^a	0.84 ± 1.06 ^a	0.16 ± 0.93 ^a	0.66 ± 0.93 ^a
20:4 n6	3.98 ± 1.17 ^a	4.14 ± 1.19 ^a	4.61 ± 0.73 ^a	2.74 ± 0.49 ^a	3.78 ± 0.57 ^a	3.73 ± 0.57 ^a	4.31 ± 0.70 ^a	3.58 ± 0.56 ^a
20:3 n3	0.05 ± 0.09 ^b	2.51 ± 0.67 ^a	0.10 ± 0.08 ^b	0.03 ± 0.04 ^b	0.01 ± 0.02 ^b	0.03 ± 0.04 ^b	0.10 ± 0.13 ^b	0.02 ± 0.03 ^b
20:4 n3	0.25 ± 0.26 ^a	0.04 ± 0.11 ^b	0.37 ± 0.18 ^a	0.46 ± 0.17 ^a	0.42 ± 0.17 ^a	0.41 ± 0.16 ^a	0.42 ± 0.33 ^a	0.41 ± 0.16 ^a
20:5 n3	9.68 ± 2.86 ^{bc}	11.66 ± 3.13 ^{ab}	8.57 ± 1.56 ^{bc}	14.23 ± 1.73 ^a	9.29 ± 1.40 ^{bc}	9.79 ± 1.44 ^{bc}	9.09 ± 1.60 ^{bc}	12.01 ± 1.59 ^{ab}
22:0	0.60 ± 0.23 ^a	0.58 ± 0.23 ^a	0.49 ± 0.12 ^a	0.38 ± 0.09 ^a	0.46 ± 0.10 ^a	0.50 ± 0.11 ^a	0.52 ± 0.12 ^a	0.49 ± 0.10 ^a
23:0	0.10 ± 0.16 ^a	0.30 ± 0.28 ^a	0.09 ± 0.09 ^a	0.11 ± 0.08 ^a	0.17 ± 0.11 ^a	0.19 ± 0.11 ^a	0.09 ± 0.09 ^a	0.09 ± 0.08 ^a
22:3 n3	1.10 ± 1.33 ^a	1.11 ± 1.33 ^a	1.05 ± 0.75 ^a	0.57 ± 0.48 ^a	1.57 ± 0.79 ^a	0.91 ± 0.60 ^a	0.91 ± 0.70 ^a	0.78 ± 0.56 ^a
22:5 n3	2.15 ± 2.95 ^a	3.87 ± 3.96 ^a	2.56 ± 1.86 ^a	3.31 ± 1.83 ^a	3.79 ± 1.96 ^a	2.45 ± 1.57 ^a	2.54 ± 1.85 ^a	2.75 ± 1.67 ^a
24:0	0.00 ± 0.00 ^a	0.51 ± 0.73 ^a	0.40 ± 0.37 ^a	0.15 ± 0.20 ^a	0.31 ± 0.28 ^a	0.47 ± 0.35 ^a	0.38 ± 0.63 ^a	0.31 ± 0.29 ^a
22:6 n3	25.95 ± 8.86 ^a	25.02 ± 8.72 ^a	28.17 ± 5.31 ^a	26.17 ± 4.46 ^a	22.02 ± 4.13 ^a	23.11 ± 4.22 ^a	24.47 ± 5.00 ^a	24.15 ± 4.30 ^a
24:1 n9	2.40 ± 1.21 ^a	2.03 ± 1.11 ^a	2.91 ± 0.77 ^a	2.85 ± 0.66 ^a	1.93 ± 0.54 ^a	1.81 ± 0.53 ^a	2.72 ± 0.74 ^a	2.84 ± 0.66 ^a
Σsaturados	34.47 ± 7.10 ^a	38.10 ± 7.13 ^a	42.08 ± 4.41 ^a	30.28 ± 3.50 ^a	38.62 ± 3.67 ^a	40.87 ± 3.72 ^a	45.19 ± 7.36 ^a	37.18 ± 3.56 ^a
Emonoinsaturados	26.98 ± 4.04 ^{ab}	23.84 ± 3.52 ^b	24.36 ± 2.34 ^{ab}	27.47 ± 1.90 ^{ab}	25.38 ± 1.89 ^{ab}	28.61 ± 1.93 ^{ab}	25.63 ± 2.25 ^{ab}	25.61 ± 1.98 ^{ab}
Σpoliinsaturados	49.42 ± 6.84 ^{ab}	48.43 ± 7.00 ^{ab}	53.12 ± 4.00 ^a	52.86 ± 3.49 ^a	46.50 ± 3.43 ^a	40.77 ± 3.38 ^{ab}	40.20 ± 6.56 ^{ab}	48.04 ± 3.44 ^a
Erámificados	0.43 ± 0.20 ^{ab}	0.75 ± 0.21 ^{ab}	0.68 ± 0.14 ^a	0.43 ± 0.10 ^{ab}	0.57 ± 0.11 ^{ab}	0.74 ± 0.12 ^a	0.62 ± 0.23 ^{ab}	0.37 ± 0.09 ^b
Σn-3	41.40 ± 7.48 ^{ab}	40.71 ± 7.80 ^{ab}	44.03 ± 4.38 ^a	46.78 ± 3.91 ^a	39.50 ± 3.79 ^a	35.20 ± 3.68 ^{ab}	33.88 ± 4.26 ^{ab}	40.13 ± 3.79 ^a
Σn-6	5.84 ± 1.77 ^a	5.96 ± 1.87 ^a	6.81 ± 1.10 ^a	3.92 ± 0.75 ^a	5.52 ± 0.84 ^a	4.29 ± 0.90 ^a	5.59 ± 1.77 ^a	5.73 ± 0.85 ^a
ARA/EPA	0.36 ± 0.10 ^{abcd}	0.39 ± 0.09 ^{bcd}	0.53 ± 0.07 ^a	0.16 ± 0.03 ^c	0.37 ± 0.05 ^{bcd}	0.37 ± 0.05 ^{bcd}	0.49 ± 0.10 ^{abcd}	0.30 ± 0.04 ^b
ARA/DHA	0.18 ± 0.03 ^{abc}	0.20 ± 0.04 ^{abc}	0.22 ± 0.02 ^a	0.12 ± 0.01 ^c	0.18 ± 0.02 ^{ab}	0.15 ± 0.02 ^b	0.23 ± 0.04 ^{ab}	0.16 ± 0.02 ^b
EPA/DHA	0.49 ± 0.12 ^{abc}	0.51 ± 0.14 ^{abc}	0.43 ± 0.07 ^{bc}	0.73 ± 0.07 ^a	0.48 ± 0.07 ^{abc}	0.42 ± 0.07 ^{abc}	0.47 ± 0.13 ^{abc}	0.54 ± 0.07 ^{ab}

Cada valor representa la media ± intervalo de confianza de 95%. Valores con letras distintas son significativamente diferentes de cada uno de los otros (p<0.05). ND, no detectado.*ácido graso no identificado con 100% de seguridad, al no haber estándar para comparar su espectro de masas.

7.2.4. Ácidos grasos Dexp., Dcon. y reproductores silvestres

La Tabla IX muestra el perfil y la concentración (media % \pm intervalo de confianza 95%) de ácidos grasos (AG), en sangre de hembras mantenidas en cautiverio y silvestres, durante la época reproductiva. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la concentración del 20:4 n6, siendo el valor más alto el de las hembras silvestres (5.59 ± 1.63) y el más bajo en la Dexp (1.80 ± 1.51). La concentración del 20:5 n3, fue estadísticamente igual, aunque se observa que el valor más alto estuvo en los organismos de la Dcon. y el más bajo en los de la Dexp. Mientras que el valor más alto del 22:6 n3, se presentó en los organismos silvestres. En lo que se refiere a las sumatorias la Dexp resultó estar más alta en AG saturados, igual en AG monoinsaturados y más baja en AG poliinsaturados con respecto a lo observado en Dcon y silvestres

Los resultados obtenidos para machos se resumen en la Tabla X, donde el 18:2 n6 no mostró diferencias significativas para la Dcon., Dexp. y silvestres durante la época reproductiva al igual que el 18:3 n3. Los organismos silvestres mostraron un mayor porcentaje de 20:4 n6 (6.28 ± 0.55) que sus similares mantenidos en cautiverio Dcon. y Dexp. (4.61 ± 0.61 y 4.31 ± 0.59) respectivamente. El 20:5 n3 y 22:6 n3 fueron más altos en la Dexp. (9.09 ± 0.98 y 24.47 ± 2.80) pero no significativamente mayores a los observados en la Dcon. y silvestres (8.57 ± 0.95 , 28.17 ± 2.97 y 7.60 ± 0.69 , 27.40 ± 2.28). No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en los AG saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, entre la Dcon., Dexp. y silvestres; pero sí, en los totales para n3, n6, ARA/EPA y ARA/DHA los cuales resultaron significativamente mayores ($p < 0.05$) en los silvestres. Siendo solo la relación DHA/EPA mayor en la Dexp. (0.388 ± 0.03).

Tabla IX. Composición de ácidos grasos expresado en porcentaje, en sangre de hembras de *Lutjanus peru* alimentadas con una dieta control (Dcon.), una dieta experimental (Dexp.) enriquecida con ácidos grasos y de organismos silvestres, muestreados durante la época reproductiva.

FAME	Dcon.	Dexp.	Silvetres
14:0	1.30 ± 0.29 ^b	1.55 ± 0.32 ^b	2.11 ± 0.23 ^a
iso 14:0	0.05 ± 0.02 ^b	0.07 ± 0.03 ^{ab}	0.10 ± 0.02 ^a
15:0	0.30 ± 0.10 ^b	0.38 ± 0.12 ^b	0.77 ± 0.10 ^a
iso 15:0	0.02 ± 0.01 ^b	0.02 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.02 ^a
16:0	17.33 ± 1.64 ^b	19.69 ± 1.74 ^a	15.56 ± 0.95 ^b
16:1 n9	0.49 ± 0.15 ^a	0.60 ± 0.17 ^a	0.37 ± 0.08 ^a
16:1 n7	2.43 ± 0.71 ^a	2.71 ± 0.75 ^a	2.61 ± 0.45 ^a
iso 16:0	0.06 ± 0.03 ^b	0.04 ± 0.03 ^b	0.77 ± 0.07 ^a
anteiso 16:0	0.52 ± 0.25 ^a	0.43 ± 0.22 ^a	0.15 ± 0.08 ^b
17:0	0.76 ± 0.13 ^b	0.73 ± 0.13 ^b	1.53 ± 0.11 ^a
17:1 n7	0.20 ± 0.05 ^b	0.19 ± 0.05 ^b	0.40 ± 0.04 ^a
18:0	12.45 ± 1.17 ^b	14.38 ± 1.25 ^a	9.37 ± 0.62 ^c
18:1 n9	10.53 ± 3.15 ^a	13.72 ± 3.59 ^a	8.98 ± 1.79 ^a
18:1 n7	3.31 ± 0.61 ^a	3.54 ± 0.63 ^a	2.97 ± 0.35 ^a
18:2 n9*	0.28 ± 0.21 ^{ab}	0.51 ± 0.28 ^a	0.11 ± 0.08 ^b
18:2 n6	0.57 ± 0.15 ^a	0.56 ± 0.15 ^a	0.79 ± 0.11 ^a
19:0	0.39 ± 0.08 ^b	0.35 ± 0.08 ^b	0.67 ± 0.07 ^a
18:3 n3	0.11 ± 0.04 ^b	0.10 ± 0.04 ^b	0.22 ± 0.04 ^a
18:4 n3	0.22 ± 0.12 ^a	0.16 ± 0.10 ^a	0.18 ± 0.07 ^a
20:0	0.41 ± 0.10 ^a	0.47 ± 0.10 ^a	0.57 ± 0.07 ^a
20:1 n9	0.80 ± 0.53 ^b	0.80 ± 0.53 ^b	2.48 ± 0.57 ^a
20:2 n9	0.49 ± 0.41 ^a	0.39 ± 0.37 ^a	0.23 ± 0.17 ^a
20:2 n6	0.11 ± 0.12 ^b	0.05 ± 0.08 ^b	0.57 ± 0.16 ^a
20:3 n6	0.97 ± 0.97 ^a	0.63 ± 0.79 ^a	0.16 ± 0.24 ^a
21:0	0.46 ± 0.28 ^a	0.11 ± 0.14 ^b	0.15 ± 0.10 ^b
20:4 n6	4.68 ± 2.43 ^a	1.80 ± 1.51 ^b	5.59 ± 1.63 ^a
20:3 n3	0.06 ± 0.32 ^a	0.63 ± 1.05 ^a	0.19 ± 0.35 ^a
20:4 n3	0.39 ± 0.16 ^a	0.19 ± 0.11 ^a	0.29 ± 0.09 ^a
20:5 n3	9.47 ± 4.64 ^a	4.64 ± 3.26 ^a	8.21 ± 2.65 ^a
22:0	0.54 ± 1.08 ^a	2.22 ± 2.19 ^a	0.44 ± 0.60 ^a
23:0	0.07 ± 0.05 ^a	0.03 ± 0.04 ^a	0.09 ± 0.04 ^a
22:3 n3	1.08 ± 0.25 ^b	0.71 ± 0.21 ^c	2.11 ± 0.22 ^a
22:5 n3	2.39 ± 0.60 ^a	2.08 ± 0.56 ^a	2.81 ± 0.40 ^a
24:0	0.25 ± 0.11 ^a	0.20 ± 0.10 ^a	0.00 ± 0.01 ^b
22:6 n3	27.82 ± 4.20 ^a	21.50 ± 3.75 ^b	30.01 ± 2.66 ^a
24:1 n9	2.69 ± 0.75 ^a	2.68 ± 0.75 ^a	2.14 ± 0.41 ^a
Σsaturados	36.55 ± 4.48 ^{ab}	44.56 ± 4.78 ^a	33.30 ± 2.65 ^b
Σmonosaturados	21.39 ± 4.51 ^a	25.63 ± 4.89 ^a	21.05 ± 2.74 ^a
Σpoliinsaturados	53.12 ± 6.20 ^a	40.03 ± 5.76 ^b	56.32 ± 3.84 ^a
Σramificados	0.65 ± 0.15 ^b	0.55 ± 0.14 ^b	1.11 ± 0.12 ^a
Σn-3	44.03 ± 4.88 ^a	33.88 ± 4.46 ^b	46.88 ± 3.05 ^a
Σn-6	6.81 ± 2.78 ^a	4.20 ± 2.18 ^a	7.35 ± 1.77 ^a
ARA/EPA	0.50 ± 0.16 ^{ab}	0.33 ± 0.13 ^b	0.69 ± 0.12 ^a
ARA/DHA	0.18 ± 0.11 ^a	0.09 ± 0.08 ^b	0.20 ± 0.07 ^a
EPA/DHA	0.36 ± 0.21 ^a	0.24 ± 0.17 ^a	0.29 ± 0.12 ^a

Cada valor representa la media ± intervalo de confianza de 95%. Valores con letras distintas son significativamente diferentes de cada uno de los otros (p<0.05). *ácido graso no identificado con 100% de seguridad, al no haber estándar para comparar su espectro de masas.

Tabla X. Composición de ácidos grasos expresado en porcentaje, en sangre de machos de *Lutjanus peru* alimentadas con una dieta control (Dcon), una dieta experimental (Dexp) enriquecida con ácidos grasos y de organismos silvestres, muestreados durante la época reproductiva.

FAME	Dcon.	Dexp.	Silvestres
14:0	1.35 ± 0.31 ^b	1.61 ± 0.34 ^{ab}	1.99 ± 0.29 ^a
iso 14:0	0.05 ± 0.03 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	0.09 ± 0.03 ^a
15:0	0.32 ± 0.13 ^b	0.34 ± 0.14 ^{ab}	0.76 ± 0.16 ^a
iso 15:0	0.03 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^a
16:0	17.49 ± 1.65 ^a	18.73 ± 1.70 ^a	17.10 ± 1.26 ^a
16:1 n9	0.54 ± 0.18 ^a	0.62 ± 0.19 ^a	0.36 ± 0.11 ^a
16:1 n7	2.57 ± 0.49 ^a	2.64 ± 0.50 ^a	2.73 ± 0.39 ^a
iso 16:0	0.06 ± 0.02 ^b	0.06 ± 0.02 ^b	0.83 ± 0.06 ^a
anteiso 16:0	0.55 ± 0.13 ^a	0.44 ± 0.12 ^a	0.20 ± 0.06 ^b
17:0	0.75 ± 0.18 ^b	0.80 ± 0.19 ^b	1.55 ± 0.21 ^a
17:1 n7	0.21 ± 0.04 ^b	0.26 ± 0.05 ^b	0.38 ± 0.04 ^a
18:0	12.32 ± 8.16 ^a	13.65 ± 8.58 ^a	6.93 ± 4.77 ^a
18:1 n9	11.10 ± 2.20 ^a	12.22 ± 2.30 ^a	9.57 ± 1.58 ^a
18:1 n7	3.34 ± 2.35 ^a	3.41 ± 2.37 ^a	4.06 ± 2.00 ^a
18:2 n9*	0.33 ± 0.56 ^a	0.44 ± 0.64 ^a	0.33 ± 0.43 ^a
18:2 n6	0.56 ± 0.43 ^a	0.61 ± 0.45 ^a	0.58 ± 0.34 ^a
19:0	0.39 ± 0.13 ^b	0.39 ± 0.13 ^b	0.83 ± 0.15 ^a
18:3 n3	0.11 ± 0.11 ^a	0.11 ± 0.11 ^a	0.23 ± 0.12 ^a
18:4 n3	0.21 ± 0.06 ^a	0.17 ± 0.06 ^a	0.12 ± 0.04 ^a
20:0	0.44 ± 0.29 ^a	0.44 ± 0.30 ^a	0.46 ± 0.23 ^a
20:1 n9	0.80 ± 0.68 ^a	0.86 ± 0.71 ^a	2.04 ± 0.84 ^a
20:2 n9	0.28 ± 0.17 ^a	0.43 ± 0.21 ^a	0.29 ± 0.13 ^a
20:2 n6	0.13 ± 0.03 ^b	0.10 ± 0.03 ^b	0.30 ± 0.04 ^a
20:3 n6	0.46 ± 0.41 ^a	0.23 ± 0.29 ^a	0.14 ± 0.18 ^a
21:0	0.52 ± 0.54 ^a	0.08 ± 0.22 ^a	0.19 ± 0.26 ^a
20:4 n6	4.61 ± 0.61 ^b	4.31 ± 0.59 ^b	6.28 ± 0.55 ^a
20:3 n3	0.06 ± 0.07 ^b	0.05 ± 0.06 ^b	0.29 ± 0.12 ^a
20:4 n3	0.37 ± 0.08 ^a	0.34 ± 0.07 ^a	0.23 ± 0.05 ^b
20:5 n3	8.57 ± 0.95 ^a	9.09 ± 0.98 ^a	7.60 ± 0.69 ^a
22:0	0.55 ± 0.10 ^a	0.52 ± 0.10 ^a	0.54 ± 0.08 ^a
23:0	0.09 ± 0.05 ^a	0.09 ± 0.05 ^a	0.09 ± 0.04 ^a
22:3 n3	1.05 ± 0.23 ^b	0.91 ± 0.21 ^b	1.95 ± 0.24 ^a
22:5 n3	2.56 ± 0.49 ^a	2.54 ± 0.49 ^a	2.87 ± 0.40 ^a
24:0	0.17 ± 0.16 ^a	0.23 ± 0.18 ^a	0.01 ± 0.03 ^b
22:6 n3	28.17 ± 2.97 ^a	24.47 ± 2.80 ^a	27.40 ± 2.28 ^a
24:1 n9	2.91 ± 0.40 ^a	2.72 ± 0.39 ^a	2.41 ± 0.28 ^a
Σsaturados	36.84 ± 6.34 ^a	39.39 ± 6.49 ^a	33.59 ± 4.74 ^a
Σmonoinsaturados	22.49 ± 3.58 ^a	23.87 ± 3.68 ^a	23.16 ± 2.81 ^a
Σpoliinsaturados	51.55 ± 5.57 ^a	47.48 ± 5.47 ^a	53.41 ± 4.35 ^a
Σramificados	0.688 ± 0.17 ^b	0.575 ± 0.16 ^b	1.169 ± 0.17 ^a
Σn-3	43.49 ± 4.65 ^b	39.86 ± 4.52 ^b	43.24 ± 3.59 ^a
Σn-6	6.253 ± 1.04 ^{ab}	5.794 ± 1 ^b	7.957 ± 0.91 ^a
ARA/EPA	0.546 ± 0.08 ^b	0.485 ± 0.07 ^b	0.833 ± 0.07 ^a
ARA/DHA	0.175 ± 0.02 ^b	0.187 ± 0.02 ^b	0.244 ± 0.02 ^a
EPA/DHA	0.322 ± 0.03 ^b	0.388 ± 0.03 ^a	0.294 ± 0.02 ^b

Cada valor representa la media ± intervalo de confianza de 95%. Valores con letras distintas son significativamente diferentes de cada uno de los otros (p<0.05). *ácido graso no identificado con 100% de seguridad, al no haber estándar para comparar su espectro de masas.

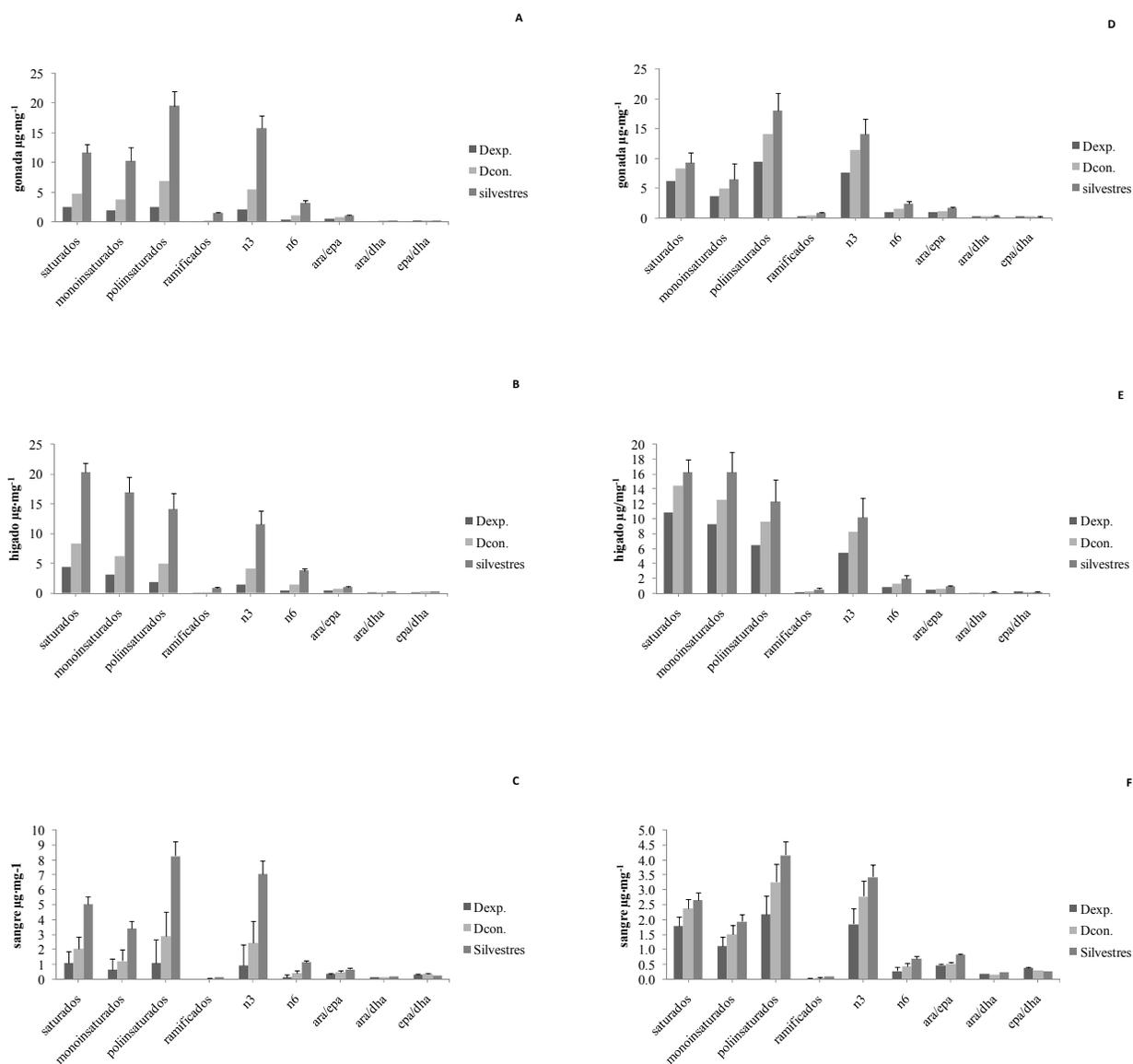


Figura 4. Sumatoria de ácidos grasos de tejido de gónada ($A_{\text{♀}}$ y $D_{\text{♂}}$), hígado ($B_{\text{♀}}$ y $E_{\text{♂}}$) y sangre ($C_{\text{♀}}$ y $F_{\text{♂}}$); durante el otoño (época reproductiva) de reproductores de *L. peru* en cautiverio (Dcon., Dexp. y silvestres).

8. Discusión

8.1. Dietas experimentales

Los estudios orientados a evaluar y establecer la condición nutricional en vertebrados, mediante el uso de diversos índices en sangre y plasma, se han llevado a cabo principalmente en mamíferos (Bahnak *et al.*, 1981; Martínez y Hewitt, 1999), aves (Brown, 1996) y en menor medida en reptiles (Peterson y Stone, 2000). Estas técnicas resultan relativamente menos invasivas y letales para los organismos; ya que no hay necesidad de sacrificarlos, y pueden ayudar en la valoración y diagnóstico del estado fisiológico y nutricional de los animales. En peces marinos se han llevado a cabo pocos estudios, principalmente en las especies con interés para la acuicultura, tal es el caso del huachinango que es una especie que presenta mayor demanda en el mercado nacional. Esta especie desde su captura presenta una gran complejidad, por lo que en este estudio solo fue posible muestrear ejemplares reproductores silvestres durante la época reproductiva natural, la cual se observó que comenzaba a finales de verano, durante otoño y principios de invierno. Por lo que las determinaciones bioquímicas basales para esta especie solo se establecieron durante el periodo reproductivo. En condiciones de cautividad si fue posible establecer un calendario de muestreo estacional durante un ciclo anual, con la temperatura y fotoperiodo natural.

Con el fin de poder evaluar la condición nutricional de los reproductores en cautiverio y conocer el efecto de la alimentación tradicional que consiste en calamar, sardina y langostilla en relación a una dieta enriquecida con ácidos grasos, como referencia para conocer si esto influye directamente o indirectamente sobre la condición nutricional o en el estado de salud y bienestar de esta especie bajo condiciones de cautividad, se mantuvieron dos dietas una establecida como dieta control (Dcon) y otra como dieta experimental (Dexp) la cual fue enriquecida. Los resultados obtenidos en relación a los huachinango alimentados con la dieta control (Dcon) y dieta experimental (Dexp), nos muestran en general en hembras y machos, que la mayor sobrevivencia (100 %), el incremento en talla y

peso obtenidos, se registró con la dieta enriquecida (Dexp) que la dieta control (Dcon), esto se puede observar con los valores obtenidos de FCA (factor de condición alimenticia), que nos indica que los reproductores necesitaron menor cantidad de alimento para producir mayor biomasa, y la ganancia en peso en las hembras se incrementó un 30 % más con la Dexp, en comparación con las hembras alimentadas con la Dcon. Con los valores de consumo de alimento, observamos que esta especie en cautividad es selectiva, ya que pudimos observar que los reproductores alimentados con la Dcon, durante el periodo de primavera, mediados de verano e invierno, el consumo de alimento fue mayor principalmente de calamar y sardina, que durante el periodo de finales de verano y otoño el cual coincide con el periodo reproductivo, se observó un aumento en el consumo de langostilla la cual contiene el mayor contenido de lípidos y una disminución del 50 % en el consumo de calamar y sardina, los cuales contienen menor cantidad de lípidos. Este mismo comportamiento en la disminución del consumo de alimento se ha observado en algunas especies de reproductores de peces marinos como el *Carassius aurata* (Sasayama and Takahashi, 1972), *Dicentrarchus labrax*, (Cerdán et al., 1994a) y el *Salmo salar* (Berglund, 1995), el cual está asociado directamente al esfuerzo reproductivo.

En condiciones de cautiverio cuando la alimentación es proporcionada a través de una dieta elaborada, el comportamiento alimenticio es diferente, los reproductores no tienen elección a otra fuente alimenticia. En el huachinango pudimos observar que el consumo de alimento de la Dexp (dieta experimental) se mantuvo igual durante todo el ciclo estacional, este comportamiento es similar a otras especies reportadas como el *Sparus aurata*, (Fernández-Palacios et al., 1995), *Siganus guttatus* (Duray et al., 1994) y *Oreochromis niloticus* (Watanabe, 1982) en donde el consumo de alimento elaborado no disminuye ni antes ni después de la época reproductiva. Este comportamiento se ha atribuido a la falta de selección de otro alimento por el reproductor, el cual depende principalmente de la calidad, cantidad y frecuencia con la que se proporciona el alimento. Si el alimento disminuye en calidad y cantidad, se ha observado que afecta directamente en su condición nutricional y el estado de salud en general, alterando directamente los procesos reproductivos. En

reproductores hembras de *Sparus aurata* (Fernández-Palacios et al., 1995), *Carassius aurata* (Sasayama and Takahashi, 1972), se ha observado que hay una inhibición en la maduración gonadal, una reducción en las tasas de fecundidad, así como un decremento en la talla de huevos y larvas, en las hembras de *Dicentrarchus labrax* (Cerdán et al., 1994a), se observó que una alimentación deficiente disminuye considerablemente los niveles de estradiol en plasma, inhibiendo por completo la maduración final de los ovocitos.

En machos de *Dicentrarchus labrax* (Asturiano et al., 2001), *Oncorhynchus mykiss* (Labbé et al 1993; Watanabe et al 1984), *Dicentrarchus labrax* (Bell., et al 1996) y Birds (Blesbois et al., 1997) se observó que los reproductores que fueron alimentados con una dieta enriquecida presentaron mayor volumen de semen durante mayor tiempo que los machos alimentados con una dieta no enriquecida, que presentaron muy poco volumen de semen. En el huachinango por los resultados obtenidos, pudimos observar que los reproductores alimentados con la dieta enriquecida durante, verano y otoño, se registraron reproductores con semen en comparación, los alimentados con la dieta no enriquecida, no hubo presencia de machos fluyentes. Lo anterior nos indica que es importante proporcionar a los reproductores de hembras y machos de huachinango una buena alimentación enriquecida para mejorar su condición nutricional en cautiverio.

8.2. Variables bioquímicas en plasma (química-sanguínea)

En cuanto al uso de la determinación de la condición nutricional a través del análisis de la bioquímica-sanguínea, según Congleton y Wagner (2006), no se había observado el empleo de variables bioquímico sanguíneas como indicadores de condición nutricional y actividad de alimentación de los peces, hasta el trabajo realizado por ellos en el 2006. Por otro lado, existen diversos trabajos que han utilizado la bioquímica sanguínea como indicadores de problemas de salud, estrés y/o para establecer los valores basales (o normales), de varios metabolitos y moléculas que circulan en el torrente sanguíneo de teleósteos (Gornall y

Kuksis., 1973; Babin y Vernier., 1989; Hrubec *et al.*, 2000; Coz-Rakovac *et al.*, 2005; De-Pedro *et al.*, 2005; Coz-Rakovac *et al.*, 2008), por tal motivo en este trabajo de investigación que realizamos se utilizaron estas técnicas bioquímicas para poder establecer algunos valores basales que sirvan como referencia para futuras investigaciones en esta especie, ya que hasta el momento no se cuentan con trabajos previos en relación a este tema.

Uno de los factores que repercuten directamente en el bienestar y estado de salud general de cualquier organismo es la nutrición. La mayoría de la energía bruta del alimento esta contenida en la forma de tres tipos de moléculas, llamados carbohidratos, lípidos (triglicéridos, colesterol, ácidos grasos) y proteínas (De Silva y Anderson, 1995). Comúnmente las dietas de la mayoría de los reproductores de peces marinos cultivados, están basadas en productos frescos (pescado, crustáceos, calamar, entre otros). El uso de estos productos no procesados, frecuentemente no proporciona niveles adecuados de nutrientes a los reproductores de peces e incrementan el riesgo de introducción accidental de patógenos, tales como nodavirus y septicemias hemorrágicas víricas, incluyendo endo y ecto parasitos, bacterias, hongos etc., al sistema de cultivo (Asturiano *et al.*, 2001; Izquierdo *et al.*, 2001). Por lo que se recomienda utilizar principalmente dietas elaboradas para el huachinango para evitar este tipo de patógenos. Durante el tiempo de la experimentación, mensualmente se realizaron análisis de parásitos en el sedimento y en los reproductores que murieron no se reportó existencia de ningún patógeno.

Otra de las consideraciones que se tienen que tomar en cuenta cuando se emplean análisis de la bioquímica-sanguínea en peces marinos, es la toma de la muestra de sangre al mismo tiempo, en el mismo tanque de cultivo o unidad de crianza, empleando el mismo tipo de anestesia y la misma técnica de captura, ya que se ha reportado en otros estudios, que la condiciones del hábitat, estación del año, edad, entre otros, causan cambios progresivos en algunos índices, especialmente en un tejido tan sensible como es la sangre y los muestreos

principalmente la captura puede generar estas variaciones por estrés (Guijarro *et al.*, 2003; De-Pedro *et al.*, 2005; Coz-Rakovac *et al.*, 2008), estas mismas consideraciones fue tomada en cuenta con cada uno de los reproductores de huachinango, considerando siempre generar la menor manipulación posible por lo que los muestreos fueron establecidos dejando un intervalo de 30 a 45 días, lo cual permitió a los reproductores recuperarse de la manipulación.

Los reproductores de peces marinos comúnmente muestran cierto grado de estacionalidad, la cual es más marcada mientras más alta sea la latitud, debido a que la amplitud y variación estacional se incrementa. Los ciclos estacionales son principalmente influenciados por el fotoperiodo y la temperatura, entre otras variables fisiológicas, los cuales están relacionados al ciclo reproductor (Pankhurst y Porter, 2003), este mismo comportamiento de variación estacional fue observado para el huachinango, en las diferentes variables bioquímicas determinadas, como se mencionan a continuación para cada una de ellas.

8.2.1 Colesterol

En gran medida el colesterol es el principal esteroide en el tejido de los animales, incluyendo los peces. Puede existir esterificado como un ácido graso, por ejemplo, como colesteril ésteres del plasma sanguíneo, pero también existen en la forma no esterificada, como se observa en las membranas plasmáticas de las células (Sargent *et al.*, 2002). Además, el colesterol es precursor de hormonas esteroideas y sales biliares (De Silva y Anderson, 1995).

En la lubina europea, diferencias significativas han sido encontradas en los lípidos plasmáticos, (colesterol y triglicéridos), cuando se han utilizado dietas con y sin suplemento de aceite de pescado (Lemaire *et al.*, 1991). En el presente estudio, se observó

una concentración de COL mayor en hembras de la Dexp, con respecto a las de la Dcon, siendo significativamente mayor durante otoño, lo cual coincide con la época reproductiva (Fig. 1), donde se observa también que los RS presentan concentraciones de COL similares a lo organismos de la Dexp, lo cual puede ser atribuible a que esta dieta esta suplementada con aceite de pescado rico en EPA y DHA; lo que resulta conveniente en peces, dado que el COL es precursor de varias hormonas sexuales (progesterona, estrógenos y testosterona).

Excepto por los Condrictios (rayas, tiburones, etc.) y el Osteíctio *Ginglymodi* (luciperca), el uso de los estándares aplicados a mamíferos, en particular a los humanos, clasifica a los peces como hipercolesterolemicos. Por ejemplo, en truchas arcoíris alimentadas, el plasma transporta tres veces mas colesterol ($303 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs. $106 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) que ratas bajo las mismas condiciones de alimentación (Babin y Vernier., 1989). Lo anterior concuerda con las concentraciones de COL obtenidas en plasma de huachinango, machos y hembras, donde los niveles estuvieron incluso por encima de lo reportado para trucha arcoíris.

Se han observado cambios estacionales en la concentración de COL plasmáticos de algunos teleósteos. Kavadias *et al.*, (2003) reportó que las concentraciones de COL en plasma, de juveniles, de lubina europea tuvieron los niveles más bajos durante la primavera ($1.33 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ o $133 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) y los más altos en invierno ($3.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ o $305 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$). Mientras que las concentraciones más altas de COL del presente estudio se registraron en otoño en machos y hembras de ambas dietas; y los más bajos durante el invierno (Fig 1 y 2). Por otro lado, lo encontrado por Guijarro *et al.*, (2003) y De Pedro (2005) en machos y hembras de tencas sexualmente maduras, coincide con lo observado en los reproductores de huachinango; ellos encontraron que los niveles de COL de las tencas, en ambos sexos, mostraron los valores mas elevados durante el otoño y decrecían marcadamente en invierno. Decrementos en las concentraciones de colesterol total se han encontrado en otras especies de teleósteos asociados principalmente a su periodo reproductivo, como consecuencia de un incremento del índice gonadosomático debido a que el colesterol ha sido incorporado a la estructura endógena de ovocitos y huevos (McDonald y Milligan, 1992).

8.2.2 Triglicéridos

Los niveles de TG en plasma de RS durante la época reproductiva, fueron mucho más altos en hembras, aproximadamente 1.5 veces más, que en machos del mismo origen. Lo anterior coincide con lo encontrado por Svoboda *et al.*, (2001) en la tenca, donde las hembras mostraron niveles de TG mayores que los machos antes y después de la época de desove. En contraste, con lo observado por Guijarro *et al.*, (2003), para la misma especie, donde machos y hembras presentaron patrones similares de TG plasmáticos, siendo únicamente mayores en machos durante el verano.

En hembras, únicamente se observaron diferencias entre la Dexp y la Dcon en verano, siendo la primera significativamente mayor (Fig. 1), mientras que en machos la diferencia se observó durante el otoño siendo mayor en la Dcon (Fig. 2). Sin embargo, durante la época reproductiva los RS, hembras y machos, presentaron niveles de TG plasmáticos mayores que los registrados en ambas dietas; en comparación con los mantenidos en condiciones de cautiverio, donde estos fueron significativamente menores a los RS en ambos sexos. Los niveles de TG de las hembras silvestres, estuvieron 3.4 y 3.6 veces por encima a los de las hembras de Dexp y Dcon respectivamente, y en machos silvestres de 2.3 a 1.9 veces arriba, con respecto a sus similares de la Dexp y Dcon. Con relación a lo anterior expuesto, es posible que este sea un índice no tan práctico para determinar la condición nutricional de los peces capturados en campo. Ya que la variabilidad en la concentración plasmática de TG, en peces silvestres; podría ser generalmente mayor que en peces de laboratorio, debido a que los niveles de TG se incrementan después de una alimentación (Congleton y Wagner., 2006). Esta fuente de variabilidad fue reducida en el laboratorio, muestreando los peces 24 h después de la última alimentación. La concentración de TG en plasma puede, sin embargo, ser útil dentro de la variedad de parámetros medibles de la química sanguínea, si este se toma como un acercamiento multivariado para valorar la condición nutricional (Wagner. y Congleton, 2004).

Al igual que con otras variables bioquímicas del plasma, existen diversos factores que pueden afectar la concentración de TG plasmáticos. Algunos estudios realizados en peces cultivados a diferentes densidades, han mostrado que a mayor densidad, los TG se ven afectados. Por ejemplo, estudios realizados con lubina europea, dorada (Roncarati *et al.*, 2006) y con trucha arcoíris (Melotti *et al.*, 2004); mostraron que los TG estuvieron más altos en los tratamientos intensivos en comparación con los semi-intensivos y extensivos. Sin embargo, los niveles máximos y mínimos, de este parámetro, se mantuvieron dentro de los valores basales para estas especies.

La alimentación y/o el ayuno de los peces, repercute en los niveles de TG; como encontraron Congleton y Wagner. (2006), en truchas arcoíris y salmón Chinook. Ellos mantuvieron un grupo de peces en alimentación continua y otro en ayuno prolongado, y midieron la manera en que los TG plasmáticos se comportaban en ambos. La concentración de TG en el plasma de peces sometidos a ayuno y los alimentados, no divergió significativamente, en un cierto periodo de tiempo, en ninguno de sus ensayos, aunque la concentración media disminuyó substancialmente en las truchas y salmónes mantenidos en ayuno (en 51 % y 66% de la concentración de los peces alimentados).

Los TG, por lo tanto, son de gran importancia dado que son una de las formas principales de lípidos neutros y de energía disponibles para los peces en su ambiente natural (Babin y Vernier., 1989). En general, las dietas de los animales con un elevado contenido de grasas y carbohidratos, llevan a un aumento significativo en los niveles de TG en tejido y plasma. Puesto que los TG se sintetizan principalmente en el hígado, de los carbohidratos que proporcionan una fuente de energía secundaria, y se almacenan en el tejido adiposo, pueden ser indicativos de enfermedad aguda del hígado y de una dieta alta en grasas (Coz-Rakovac *et al.*, 2005).

8.2.3 Lípidos Totales

La variación estacional en los niveles de lípidos esta relacionada fundamentalmente, con el ciclo reproductivo, es un patrón en la naturaleza que los peces acumulen grandes reservas de lípidos durante la primavera y finales de verano cuando el alimento esta en plenitud. La mayoría de las especies marinas de peces desovan en primavera. Consecuentemente, los peces marinos generalmente presentan las concentraciones más altas y bajas de lípidos a principios de invierno y primavera respectivamente (Sargent, 1995). En el huachinango, Reyna-Trujillo (1993), menciona que el periodo de reproducción ocurre de julio a septiembre (verano) en Baja California Sur y Lucano-Ramírez (2000), en las costas de Jalisco, encontró que los desoves se dan principalmente en otoño. En el presente estudio, los LT de las hembras de ambas dietas (Dcon y Dexp), presentaron los niveles más altos en primavera, observándose un decremento continuo en los niveles hacia el invierno (Fig 1). Lo anterior es relativamente similar a lo observado en machos, aunque los LT tuvieron su máximo en verano (Fig. 2). Los niveles de LT, están mas altos antes del periodo reproductivo natural en el huachinango, lo que concuerda con lo reportado para la lota *Lota lota*, (Mustonen *et al.*, 2002). Durante la época reproductiva los RS, mostraron niveles similares a los reproductores mantenidos en cautiverio, tanto en hembras como en machos. Mientras que si se observaron diferencias entre estaciones para LT, siendo mayores en primavera en hembras de la Dexp, y durante el verano en los machos de la Dcon. Contrario a lo observado en la lubina europea por Kavadias *et al.*(2003), donde las concentraciones más altas de LT en plasma se presentaron durante verano-otoño y las más bajas en la temporada de invierno a principios de verano.

La concentración de lípidos en plasma de peces, particularmente del colesterol y triglicéridos, es altamente dependiente del estado nutricional o fisiológico y de su etapa de desarrollo (Babin y Vernier., 1989).

Los lípidos contienen más energía por unidad de peso que cualquier otro componente de la dieta, y estos son utilizados eficientemente por los peces como una fuente de energía. Los

lípidos, hasta cierto punto, incrementan la palatabilidad del alimento y son una excelente fuente de energía no proteica (De Silva y Anderson, 1995).

8.2.4 Proteínas Totales

Los aminoácidos, tienen una función importante en el metabolismo de los peces. Los peces carnívoros, como los salmónidos, requieren una dieta alta en proteínas para alcanzar tasas de crecimiento máximas (Navarro *et al.*, 1997), lo cual es también aplicable al huachinango dada su características depredadoras. Se sabe que varios nutrientes, dentro de los cuales se incluyen proteínas, lípidos, vitaminas y minerales, afectan de manera importante la resistencia a enfermedades en los vertebrados modulando el sistema inmune (Landolt, 1989). La concentración de PROT en plasma, es usada como un índice básico de la condición y estado de salud en peces (Svoboda *et al.*, 2001), así como un indicador de discapacidad hepática. Cuando la concentración de proteínas plasmáticas incrementa, puede ser ocasionado por una alteración estructural del hígado, reduciendo la actividad aminotransferasa, con la simultánea reducción en la capacidad de desaminación (Coz-Rakovac *et al.*, 2005).

Un estudio realizado con el ciprinido *Tinca tinca* por De Pedro *et al* (2005) encontró los valores mas altos en la concentración de PROT durante el invierno para hembras ($4.0 \pm 0.10 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$) y machos ($3.60 \pm 0.10 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$), lo que coincide con lo reportado por Guijarro *et al* (2003) para la misma especie. Lo anterior concuerda con lo encontrado en el presente trabajo en hembras (Fig. 1), pero no para machos, donde se registró la concentración más alta durante el verano (Fig. 2). En general, el comportamiento de los niveles de PROT, a través de las 4 estaciones, fluctuó ligeramente en las hembras de la Dcon, observándose en las alimentadas con la Dex una caída significativa en verano. Caso contrario a lo que se observó en los machos, donde fueron los alimentados con Dcon los que presentaron una

caída durante el otoño siendo los de la Dexp los que se mantuvieron relativamente más estables.

Generalmente, los requerimientos de proteína, en los peces, decrecen con el incremento de talla y edad (De Silva y Anderson, 1995; Wilson, 2002). Por ejemplo, los niveles óptimos de proteínas en la dieta de crías de salmónidos es de 45-50 % de la dieta, mientras que los juveniles requieren 40 % y juveniles mayores a un año mas o menos 35 % de proteína un su dieta (Hilton y Slinger, 1981 ; Wilson, 2002).

Se ha reportado que cambios en la temperatura del agua alteran los requerimientos de proteínas de algunos peces, mientras parece no afectar a otros. Ya en 1958 (DeLong *et al.*), encontró que el salmón rey o Chinook, *Oncorhynchus tshawytscha*, requiere 40 % de proteína a 8 °C y 55 % a 15 °C. Algo similar fue observado en la lobina rayada, *Morone saxatilis*, donde un 47 % de proteína era requerido a 20 °C y aproximadamente un 55 % a 24 °C. Sin embargo, cuando truchas arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*, fueron alimentadas con dietas con diferentes niveles de proteína cruda, 35, 40 y 45 %, a temperaturas que iban desde los 9 °C hasta los 18 °C, ninguna diferencia en el requerimiento de proteínas pudieron ser encontradas. En general, el índice de crecimiento y consumo de alimento incrementan si la temperatura del agua aumenta, de esta manera es generalmente mas aceptado que un cambio en la temperatura afecte el consumo de alimento mas que el requerimiento de proteína (Wilson, 2002).

8.2.5 Cortisol

En cuanto al cortisol, pudimos observar que durante el periodo de verano los reproductores de huachinango alimentados con la Dexp, presentaron los niveles más bajos de cortisol (19.81 ng.mL⁻¹), mientras que los alimentados con la Dcont, aumentó el nivel de cortisol considerablemente (69.42 ng.mL⁻¹), este aumento del cortisol se vio reflejado en la

sobrevivencia de los reproductores, ya que se registró la muerte de tres ejemplares durante ese periodo, lo cual podemos asumir que por una mala condición nutricional no soportaron el estrés por el manejo y anestesia elevando los niveles, esta muerte también la podemos atribuir a que esta especie se mantiene mejor a temperaturas de 22 a 24 °C, según lo reportado por Pintos *et al* (2004) y lo observado en los reproductores silvestres que fueron capturados a 100 metros de profundidad durante la época reproductiva a una temperatura de 20 °C y fueron mantenidos durante el proceso de aclimatación en un rango de 22 a 24 °C, manteniéndose estables sin registrarse pérdidas de organismos. Una vez comenzado el experimento también se observó que al incremento de temperatura esta especie es menos tolerante a los cambio de temperatura y pudiendo haber afectado los procesos reproductivos. Se ha observado que en especie de aguas frías como el Salmón del atlántico (Bowers, 2000), con el aumento de temperatura saliendo de su rango optimo se inhiben los procesos reproductivos con el incremento de temperatura, provocando niveles altos de cortisol ocasionando la muerte del organismo.

Podemos observar en la Tabla XI que la Carpa común (Sadler *et al.*, 2000) y trucha arcoiris (Tort *et al.*, 2002), los niveles pre-estrés antes de cualquier manipulación son semejantes en los que obtuvimos en el huachinango, sin embargo a diferencia de estas dos especies podemos observar que a un incremento arriba del 30 % del cortisol en plasma es letal para esta especie. Durante el periodo de otoño e invierno los niveles de cortisol se mantuvieron muy similares en ambas dietas, el cual coincide con el periodo reproductivo natural, y con los niveles reportados en el Salmón del Atlántico diploide y el triploide (Sadler *et al.*, 2000).

Tabla XI. Resumen de las respuestas del cortisol en plasma de peces sometidos a diferentes estresores en estudios realizados durante los últimos 8 años.

Especie	Estresor	Cortisol (nmol·L ⁻¹)		Referencia
		Pre-estrés	Post-estrés	
Salvelino (<i>Salvelinus alpinus</i>)	manejo	5	449	Lyytikäinen, 2002 Jorgensen, 2002
		<27	827	
Salmon del Atlántico (<i>Salmo salar</i>)	piojo marino	99	339	Bowers, 2000
Salmon del Atlántico diploide	confinamiento	27	151	Sadler, 2000
Salmon del Atlántico triploide	confinamiento	27	124	Sadler, 2000
Trucha de arroyo (<i>Salvelinus fontinalis</i>) diploide	manejo+confinamiento	19	242	Benfey, 2002
Trucha de arroyo triploide	manejo+confinamiento	2	146	Benfey, 2002
Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>)	densidad	19	206	Ruane, 2002
Esturión pálido (<i>Scaphirhynchus albus</i>)	confinamiento	5	16	Barton, 2000
Esturión pálido	manejo	5	8	Barton, 2000
Trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mikiss</i>)	manejo+anestésico	22	137	Tort, 2002
Trucha arcoíris	confinamiento	49	110	Benguir, 2002
Trucha arcoíris diploide	manejo+confinamiento	77	698	Benfey, 2002
Trucha arcoíris macho	trampas	16	380	Clements, 2002
hembras		57	754	
Trucha arcoíris triploide	manejo+confinamiento	33	640	Benfey, 2002
Besugo (<i>Pagrus pagrus</i>)	color de fondos (negros) +hacinamiento	11	171	Rotllant, 2003
Pez sable (<i>Anoplopoma fimbria</i>)	pesca con anzuelo	82	441	Davis, 2001
Dorada (<i>sparus aurata</i>)	hacinamiento	13	358	Ortuno, 2001
Dorada	manejo+anestésico	5	55	Tort, 2002
Lucioperca (<i>Stizostedion vitreum</i>)	captura+transporte	33-135	380-480	Barton, 2003
Huachinango (<i>Lutjanus peru</i>)	manejo+confinamiento +anestésico		34-206	Presente estudio 2008

Nota: La mayoría de los niveles de cortisol fueron estimados de las figuras por lo cual son valores aproximados, a excepción de *L. Peru*. La mayoría de los valores (aproximados) fueron convertidos de ng·mL⁻¹ a nmol·L⁻¹. Tabla tomada y modificada de Evans y Claiborne, 2006.

8.2.6 Ácidos Grasos

Los lípidos de la dieta, juegan un papel muy importante en la nutrición de peces, como fuente de ácidos grasos esenciales (AGE) y de energía (Sargent *et al.*, 2002). Además actúan como transportadores de vitaminas lipo-solubles y proveen de otros componentes como son los lípidos polares y esteroides, los cuales son importantes componentes de las membranas celulares (Lee, 2001). Los requerimientos de AGE de la serie n3, para peces marinos, solo pueden ser cubiertos por el 20:5 n3 junto con el 22:6 n3 (DHA) y por el 20:4 n6 (ARA) de la serie n6. En contraste, los AGE de la serie n3, para peces de agua dulce, pueden ser cubiertos generalmente por el 18:3 n3 (ácido alfa-linolenico) y el 18:2 n6 (ácido

linoleico) de la serie n6 (Sargent *et al.*, 1995b; 1997) precursores del EPA, DHA y ARA respectivamente.

Muchos investigadores han confirmado la importancia de un adecuado suministro de AGE, particularmente en el tiempo en que el ciclo de la vida del pez lo demanda en cantidades altas, por ejemplo, la vitelogénesis (Sargent, 1995; Navas *et al.*, 1997). Ciertamente, las dietas húmedas, las cuales han sido usadas tradicionalmente en la alimentación de reproductores, pueden ser la mejor manera de conseguir los requerimientos nutricionales de los peces y de asegurar una buena calidad de huevos. Sin embargo, el uso de dietas húmedas requiere un cuidadoso manejo de las fuentes y del suministro de los componentes para mantener la calidad de los productos de la dieta. Además, el pescado “fresco”, ha sido implicado como una posible ruta de introducción inadvertida de patógenos al sistema de cultivo. (Bruce *et al.*, 1999).

El crecimiento de los reproductores parece haber sido mas drásticamente afectado por los tratamientos (Dcon y Dexp) en hembras que en machos (Tabla VI). Resultados similares fueron observados por Furuita *et al.*, (2000) en la platija japonesa *Paralichthys olivaceus*, alimentada con dietas suplementadas con diferentes niveles de ácidos grasos altamente insaturados (HUFAS) de la serie n3, 20:5 n3 y 22:6 n3 principalmente.

Algunos de los AG saturados, como el 14:0, mostraron diferencias estacionales significativas ($p < 0.05$) en ambos sexos (Tabla VII y VIII), lo cual no se observó para el 16:0 uno de los AG saturados mas abundantes en sangre de huachinango junto con el 18:0, los cuales se observaron en porcentajes entre 16.78 a 21.65 % y 11.73 a 15.03 % respectivamente. Estos porcentajes son similares a los observados por Jordal *et al.*, (2007) en plasma de salmón del atlántico *Salmo salar*, para el 16:0 pero no para el 18:0 donde la concentración estuvo por abajo de la observada en huachinangos. Es importante subrayar que los ácidos grasos saturados 16:0 y 18:0 pueden ser biosintetizados *de novo* por todos los organismos conocidos, incluyendo los peces. Asimismo, todos los organismos

incluyendo los peces, son capaces de desaturar el 16:0 y 18:0 a su homólogos moinsaturados 16:1 n7 (ácido palmitoleico) y 18:1 n9 (ácido oleico) mediante la Δ^9 desaturasa (Sargent *et al.*, 1995b; 2002).

En lo que respecta a los HUFAS, no se observaron diferencias en ninguna de las cuatro estaciones en hembras (Tabla VII), ni en machos (Tabla VII) para el ARA (o ácido araquidónico). No se observó lo mismo en el caso de EPA, donde la concentración mas alta se registro en invierno para ambas dietas, pero contrario a lo que esperábamos, este fue significativamente mas alto en la Dcon ($p < 0.05$) con respecto a la Dexp tanto en hembras como en machos. Mientras que para el DHA, las hembras de la Dcon presentaron los niveles más altos durante el otoño. En los machos no se observaron diferencias pero, los niveles mas altos al igual que en hembras se presentaron durante el otoño, época reproductiva natural, lo cual sugiere la movilización activa de estos AGE un componente muy importante de gónadas masculinas y femeninas en teleósteos.

Los resultados anteriores, donde varios AG entre ellos los AGE ARA, EPA y DHA, resultaron ligeramente mayores en la Dcon (tanto en machos como en hembras), resultan complicados de explicar. Una posible explicación, por la cual los organismos de la Dcon hayan tenido los niveles un poco más altos que los alimentados con la Dexp, a pesar de que esta ultima estaba enriquecida con aceite de pescado, puede deberse a las características físicas de las dietas. Mientras que la Dcon era proporcionada entera, es decir, en trozos acorde al tamaño de la boca de los peces como se hace tradicionalmente; la Dexp era procesada pasando los componentes de esta por un extrusor (molino), lo que hacia que las partículas fuesen mas pequeñas. En peces teleósteos, la absorción de las grasas y secreción de lipoproteínas por el intestino hacia la linfa, es básicamente comparable con el proceso de mamíferos, aunque la asimilación es mas lenta en peces (Babin y Vernier., 1989). Si consideramos que el alimento de un pez permanece en el estomago, cuando este lo tiene, un tiempo relativamente largo (con frecuencia varias docenas de horas) (Guillaume *et al.*, 2002). Por ejemplo, en la trucha el pico de absorción máximo se registra entre 18 a 24

horas después de alimentarse (Sire *et al.*, 1981) aunque; algunas investigaciones señalan que rango de tránsito de los alimentos por el tracto digestivo de peces carnívoros va de 10 hasta 158 horas (Clements y Raubenheimer, 2006) dependiendo de la especie y temperatura. Lo anterior sugiere, que los peces de la Dcon hayan tenido un mayor desgaste mecánico en el estómago dada la función de este de iniciar la ruptura del alimento o presas a través de enzimas digestivas, jugos gástricos y/o disrupción mecánica vía contracciones musculares (Clements y Raubenheimer, 2006), y al hecho de que toda esta maquinaria digestiva tendría que iniciar la digestión, primeramente, de los tegumentos exteriores mediante intensas actividades proteolíticas ligadas a una actividad quitinolítica (Guillaume *et al.*, 2002). En contraste las enzimas (proteasas, lipasas, etc.) de los peces alimentados con la Dexp, podrían estar actuando más rápido sobre las partículas de alimento, al haber sido estas previamente molidas, por lo cual las enzimas tendrían más superficie de contacto para hidrolizar las moléculas de alimento e incorporarlas más rápidamente al torrente sanguíneo.

Los progresos en la industria de la acuicultura son y serán dependiente de estudios sobre nutrición y bioquímica de los peces, tanto de las especies explotadas en la actualidad, como de aquellas nuevas especies de peces marinos que sean potencialmente importantes para desarrollar el cultivo en cautiverio. En la actualidad existen varios parámetros bioquímicos-sanguíneos que pueden ser evaluados como indicadores del estado nutricional y de salud de los peces marinos, por lo que debe de encontrarse aquel que sean un mejor indicativo cualitativo y cuantitativo, de los cambios internos que pueda estar sufriendo el animal en condiciones de cautiverio durante las diferentes estaciones del año y durante el ciclo reproductivo, las cuales también son influenciadas por la temperatura, el fotoperiodo, estrés, entre otros. Sin embargo, es difícil definir cuáles son los factores más importantes que afectan los cambios estacionales en la bioquímica sanguínea de los peces.

Los datos obtenidos en este estudio son únicamente valores de referencia descritos para el huachinango del pacífico, esperamos que esta investigación provea de información básica buena para futuros estudios en esta especie y en otros lutjanidos.

9. Conclusiones

1.- El menor consumo de alimento durante el ciclo estacional se registró con los reproductores alimentados con la Dexp, en donde observó la mayor supervivencia (100%), mejor apariencia física y coloración, así como un aumento de 1.9 veces más de talla y peso que los reproductores alimentados con la Dcon.

2.- En relación a los análisis bioquímicos- sanguíneos, se observaron cambios estacionales en el colesterol, triglicéridos, lípidos totales, proteínas totales, cortisol y ácidos grasos en ambos sexos; con diferente patrón dependiendo de la estación.

3.- Los niveles más bajos de las medias en colesterol, triglicéridos y lípidos totales se presentaron en invierno en ambas dietas y sexos.

4.- Las concentraciones de cortisol determinadas, nos sugieren que para esta especie se registraron los valores más bajos en invierno en ambos lotes de reproductores alimentados con la Dexp y la Dcon, los valores más altos de cortisol fueron registrados con los reproductores alimentados con la Dcon en verano iniciando la época reproductiva, coincidiendo con el aumento de temperatura y con la muerte de algunos reproductores.

5.- Los resultados bioquímicos- sanguíneos, nos muestran que la condición nutricional de los reproductores en condiciones de cautiverio muestran una variación estacional relacionada con su periodo reproductivo, la especie *Lutjanus peru* desde su captura presenta una gran complejidad por lo que solo fue posible obtener reproductores durante la época reproductiva natural y realizar las comparaciones en los análisis bioquímicos con los reproductores en cautiverio.

6.- En general los ácidos grasos relacionados directamente con los procesos reproductivos, se obtuvieron las mayores concentraciones en los reproductores silvestres que los de

cautiverio durante la época reproductiva, por lo que es necesario implementar dietas con mayor porcentaje de ácidos grasos principalmente EPA, DHA y ARA en esta especie.

7.- El emplear técnicas bioquímicas-sanguíneas, nos da la ventaja de muestrear reproductores en cautiverio sin necesidad de sacrificarlos y así poder saber su condición nutricional y el estado de salud en general en el que se encuentran.

10. Literatura citada

Álvarez-Borrego, J. y E. J. Fájér-Ávila. 2006. Identification of platyhelminth parasites of the wild bullseye pufferfish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1853) using invariant digital color correlation. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 40(1):129-139.

Álvarez-Lajonchère, L. 2006. Nutrición de Reproductores de Peces Marinos. En: Editores: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega. *Avances en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México
1-9.

Allen, G. R. 1987. Synopsis of the Circumtropical Fish Genus *Lutjanus* (Lutjanidae). In: J.J. Polovina and S. Ralston (eds.), *Tropical snappers and groupers: Biology and Fisheries Management*. Westriem Press, Boulder, Colorado:pp. 33-87.

Allen, G. R. y D. R. Robertson. 1994. *Fishes of the Tropical Eastern Pacific*. University of Hawaii Press, Honolulu.

Amezcu-Linares, F. 1996. Peces demersales de la plataforma continental del Pacífico central de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. CONABIO. México. 184 pp.

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Vol. I, 16th edn. Washington, DC. 1234 pp.

Arnold, C. R., J. B. Kaiser y G. J. Holt 2002. Spawning of *Cobia Rachycentron canadum* in Captivity. *Journal of the World Aquaculture Society* 33(2):205-208.

Asturiano, J. F., L. A. Sorbera, M. Carrillo., S. Zanuy, J. Ramos, J. C. Navarro y N. Bromage. 2001. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194:173-190.

Avilés-Quevedo, A., L. Reyes-Juárez, O. Hiraes-Cosío, R. Rodríguez-Ramos y U. McGregor-Pardo. 1996. Resultados preeliminares en el cultivo del Huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) en jaulas flotantes en Bahía Falsa, B.C.S., México. *Acuicultura en Latinoamerica. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. 2ª Simposio de Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile*. Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.:248-251.

- Babin, P. J. y J. M. Vernier. 1989. Plasma lipoproteins in fish. *Journal of Lipid Research* 30:467-489.
- Bahnak, B. R., J. C. Holland, L. J. Verme y J. J. Ozoga 1981. Seasonal and Nutritional Influences on Growth Hormone and Thyroid Activity in White-Tailed Deer. *The Journal of Wildlife Management* 45(1):140-147.
- Barnes, H. y J. Blackstock. 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophovanillin method for 'total' lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 12:103-118.
- Barnung, T. N. y Grahl-Nielsen. 1987. The fatty acids profile in cod (*Gadus morhua*) eggs and larvae. Developmental variations and responses to oil pollution. *Sarsia* 72:412-417.
- Barón-Sevilla, B. y J. P. Lazo-Corvera. (2007). California halibut *Paralichthys californicus* seed production in Ensenada, Baja California, México. *Panorama Acuicola Magazine*. 12: 54-58.
- Bayir, A., A. N. Sirkecioglu, H. Polat y N. M. Aras 2007. Biochemical profile of blood serum of siraz *Capoeta capoeta umbla*. *Comp. Clin. Pathol.* 16:119-126.
- Bellastrazzi, R., D. Lanari, E. D. Agaro y A. Mion. 1994. The effect of dietary level and source on growth, body composition, total ammonia and rective phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 127:197-206.
- Bligh, E. G. y W. G. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Bradford, M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.
- Brown, M. E. 1996. Assessing body condition in birds. En: V. J. Nolan and E. D. Ketterson. *Current Ornithology*. Plenum Press. New York vol. 13: 67-135. pp.
- Bruce, M., F. Oyen, J. G. Bell, J. F. Asturiano, B. M. Farndale, M. Carrillo, S. Zanuy, J. Ramos y N. Bromage. 1999. Development of broodstock diets for de European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of *n-3* and *n-6* highly unsaturated fatty acid reproductive performance. *Aquaculture* 177:85-97.
- Buckley, J. B. 1984. RNA:DNA ratio an index of larval fish growth in the sea. *Marine Biol.* 80:291-298.

Buschmann, A. H. 2001. The use of seaweeds in integrated aquaculture: the Chilean experience. *Journal of Phycology* 37(s3):9-9.

Campbell, T. W. (2004). Blood Biochemistry of Lower Vertebrates. 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP). Middleton WI, USA, American College of Veterinary Pathologists & American Society for Clinical Pathology.

Cara, B., F. J. Moyano, M. Díaz y M. Yúfera 2003. Evaluación de las actividades tripsina y quimotripsina como indicadores de condición nutricional en larvas de peces marinos. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura:721-726.

Cara, B., F. J. Moyano, J. L. Zambonino y C. Fauvel 2007. Trypsin and chymotrypsin as indicators of nutritional status of post-weaned sea bass larvae. *Journal of Fish Biology* 70:1798-1808.

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

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

Clements, K. D. y D. Raubenheimer 2006. Feeding and Nutrition. En: D. H. Evans and J. B. Claiborne. *The Physiology of Fishes*, 3rd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida: 47-82 pp.

Congleton, J. L. y T. Wagner. 2006. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. *Journal of Fish Biology* 69:473-490.

Coz-Rakovac, R., T. Smuc, N. Topic Popovic, I. Strunjak-Perovic, M. Hacmanjek y M. Jadan 2008. Novel methods for assessing fish blood biochemical data. *J. Appl. Ichthyol.* 24:77-80.

Coz-Rakovac, R., I. Strunjak-Perovic, M. Hacmenjek, N. Topic-Popovic, Z. Lipej y B. Sostaric. 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. *Veterinary Research Communications* 29(8):677-687.

Craig, S. R., B. S. Washburn y D. M. Gatlin. 1999. Effects of dietary lipids on body composition and liver function in juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Fish Physiol. Biochem.* 21:249-255.

Chiappa-Carrara, X., A. Rojas-Herrera y M. Mascaró. 2004. Coexistencia de *Lutjanus peru* y *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en la costa de Guerrero, México: relación con la variación temporal en el reclutamiento. *Rev. Biol. Trop.* 52(1):177-185.

De-Pedro, N., A. I. Guijarro, M. A. López-Patiño, R. Martínez-Álvarez y M. J. Delgado. 2005. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research* 36:1185-1196.

De La Cruz-Aguero, J., M. Arellano-Martínez, V. M. Cota-Gómez y G. De La Cruz-Aguero 1997. Catálogo de los Peces Marinos de Baja California Sur. IPN-CICIMAR. México, D.F. 341 pp.

De Silva, S. S. y T. A. Anderson 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall. Gran Bretaña 319 pp.

DeLong, D. C., J. E. Halver y E. T. Mertz 1958. Nutrition of Salmonoid Fishes. *Journal of Nutrition* 65:589-599.

Diaz, J. P., L. Mani-Ponset, C. Blasco y R. Connes. 2002. Cytological detection of the main phases of lipid metabolism during early post-embryonic development in three teleost species: *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata* and *Stizostedion lucioperca*. *Aquat. Living Resour* 15:169-178.

Dumas, S., M. O. Rosales-Velázquez, M. Contreras-Olguín, D. Hernández-Ceballos y N. Silverberg 2004. Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquaculture* 234:615-623.

Emata, A., B. Eullaran y T. Bagarinao. 1994. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquaculture* 121:381-387.

FAO (2006). *El Estado Mundial de la Pesca y Acuicultura*. Departamento de Pesca y Acuicultura, Roma, 2007: 176.

Furuita, H., H. Tanaka, T. Yamamoto, M. Shiraishi y T. Takeuchi 2000. Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 187:387-398.

- Gibson, R. S., Ed. (1990). Principles of Nutritional Assessment. Oxford, Oxford Press.
- Gornall, D. A. y A. Kuksis. 1973. Alterations in lipid composition of plasma lipoproteins during deposition of egg yolk. *Journal of Lipid Research* 14:197-205.
- Gracia-López, V., J. Rodríguez-Romero y J. M. P.-. Ramírez. 2004. Hormone induced spawning (HCG), and embryonic and larval development of the leopard grouper, *Mycteroperca rosacea* (Streets, 1877). *Ciencias Marinas* 30(2):279-284.
- Guijarro, A. I., M. A. López-Patiño, M. L. Pinillos, E. Isorna, N. De-Pedro, A. L. Alonso-Gómez, M. Alonso-Bedate y M. J. Delgado. 2003. Seasonal changes in haematology and metabolic resources in the tench. *Journal of Fish Biology* 62:803-815.
- Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler 2002. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Mundi-Prensa Libros. Madrid, España. 471 pp.
- Gutiérrez-Vargas, R. 1990. Tasa de crecimiento, mortalidad, reclutamiento, rendimiento y biomasa relativos por recluta de *Lutjanus peru* (Persiformes: Lutjanidae) en el Pacífico Noroeste de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 38(2B):441-447.
- Harder, J. D. y R. L. Kirkpatrick. 1994. *Physiological methods in wildlife research*. En: T. A. Bookhout. *Research and Management Techniques for Wildlife and Habitats*. The Wildlife Society. Bethesda, M.D.: 275-306 pp.
- Harms, C., T. Ross y A. Segars 2002. Plasma Biochemistry Reference Values of Wild Bonnethead Sharks, *Sphyrna tiburo*. *Veterinary Clinical Pathology* 31(3):111-115.
- Hilton, J. W. y S. J. Slinger 1981 *Nutrition. and Feeding of Rainbow Trout* Can. Spec. Pub. Fish Aquat. Sci. 55:15 pp.
- Hrubec, T. C., J. L. Cardinale y S. A. Smith 2000. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultered Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology* 29(1):7-12.
- Hrubec, T. C., S. A. Smith y J. L. Robertson 2001. Age-Related Changes in Hematology and Plasma Chemistry Values of Hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Veterinary Clinical Pathology* 30(1):8-15.
- Ingle-de la Mora, G. 2002. Incremento al valor agregado de salmónidos a través de su pigmentación con colorantes naturales. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.:582-592.

Izquierdo, M. S., H. Fernández-Palacios y A. G. J. Tacon. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197:25-42.

Jordal, A.-E. O., Ø. Lie y B. E. Torstensen 2007. Complete replacement of dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition* 13:114-130.

Kavadias, S., J. Castritsi-Catharios, A. Dessypris y H. Miliou 2004. Seasonal variation in steroid hormones and blood parameters in cage-farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *J. Appl. Ichthyol.* 20:58-63.

Kavadias, S., J. Castritsi-Catharios y A. Dessypris. 2003. Annual cycles of growth rate, feeding rate, food conversion, plasma glucose and plasma lipids in a population of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) farmed in floating marine cages. *J. Appl. Ichthyol.* 19:29-34.

Landolt, M. L. 1989. The relationship between diet and the immune response of fish. *Aquaculture* 79:193-206.

Lee, S. M. 2001. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture Research* 32(Suppl. 1):8-17.

Lemaire, P., P. Draï, A. Mathieu, S. Lemaire, S. Carrière, J. Giudicelli y M. Lafaurie 1991. Changes with different diets in plasma enzymes (GOT, GPT, LDH, ALP) and plasma lipids (cholesterol, triglycerides) of sea-bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 93:63-75.

Lepage, G. y C. Roy. 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of Lipid Research* 27:114-120.

Lund, E. D., C. V. Sullivan y A. R. Place. 2000. Annual cycle of plasma lipids in captive reared striped bass: effects of environmental conditions and reproductive cycle. *Fish Physiology and Biochemistry* 22:263-275.

Maldonado-García, M. C. 2004. Estudio de la Biología Reproductiva del Robalo Paleta *Centropomus medius* (Günther, 1864) para su aplicación en Acuicultura Biología Marina. CIBNOR, La Paz, Baja California Sur Mexico. Doctor en Ciencias. 106 pp.

Martínez, A. y D. G. Hewitt 1999. Nutritional condition of white-tailed deer in northern Mexico. *Wildlife Society Bulletin* 27(3): 543-546.

- Martínez, M., P. Couture y H. Guderley 1999. Temporal changes in tissue metabolic capacities of wild Atlantic cod *Gadus morhua* (L.), from Newfoundland. *Fish Physiol. Biochem.* 20:181-191.
- McDonald, D. G. y C. L. Milligan 1992. Chemical properties of the blood. En: W. S. Hoar, D. J. Randall and A. P. Farrel. *Fish Physiology*. Academic Press. San Diego, USA: 55-133 pp.
- McKee, T. y J. R. McKee 2003. *Bioquímica: La Base Molecular de la Vida*, Tercera Edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España 773 pp.
- Melotti, P., A. Roncarati, L. Angellotti, A. Dees, G. E. Magi, C. B. Mazzini y R. Casciano 2004. Effects of rearing density on rainbow trout welfare, determined by plasmatic and tissue parameters. *Ital. J. Anim. Sci.* 3:393-400.
- Mustonen, A.-M., P. Nieminen y H. Hyvärinen. 2002. Liver and plasma lipids of spawning burbot. *Journal of Fish Biology* 61:1318-1322.
- Navarro, I., J. Blasco, N. Baños y J. Gutiérrez 1997. Efeccts of fasting and feeding on plasma amino acid levels in brown trout. *Fish Physiol. Biochem.* 16:303-309.
- Navas, J. M., M. Bruce, M. Thrush, B. M. Farndale, N. Bromage, S. Zanuy, M. Carrillo, J. G. Bell y J. Ramos. 1997. The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. *Journal of Fish Biology* 51:760-773.
- Nelson, D. L. y M. M. Cox 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry* 4th ed. Freeman and Company. New York, NY. 1119 pp.
- Palmeiro, B. S., K. L. Rosenthal, G. A. Lewbart y F. S. Shofer 2007. Plasma biochemical reference intervals for koi. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230(5):708-712.
- Pankhurst, N. W. y M. J. R. Porter 2003. Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiol. Biochem.* 28:385-389.
- Paulsen, H. y J. G. Støttrup 2004. Growth rate and nutritional status of wild and released reared juvenile turbot in southern Kattegat, Denmark. *Journal of Fish Biology* 65:210-230.
- Peterson, C. C. y P. A. Stone 2000. Physiological Capacity for Estivation of the Sonoran Mud Turtle, *Kinosternon sonoriense*. *Copeia*, . 2000(3):684-700.

- Pintos-Terán, P., M. Rosales, S. Dumas, H. Pliego-Cortés y P. Alcántar. 2003. Características reproductivas del Huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) en cautiverio. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura:615-623.
- Rainuzzo, J. R., K. I. Reitan y Y. Olsen 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155:103-115.
- Ramos-Cruz, S. 2001. Evaluación de la pesquería de huachinango *Lutjanus peru* en la zona costera de Salina Cruz, Oaxaca, durante 1995. *Ciencia Pesquera* 14:151- 157.
- Regost, C., J. Arzel, M. Cardinal, J. Robin, M. Laroche y S. J. Kaushik. 2001. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 193:291-309.
- Roncarati, A., P. Melotti, A. Dees, O. Mordenti y L. Angellotti 2006. Welfare status of cultered seabass (*Dicentrarchus labrax L*) and seabream (*Sparus aurata L.*) assessed by blood parameters and tissue characteristics. *J. Appl. Ichthyol.* 22:225-234.
- Rubio, E. A., J. H. Loaiza y Z. Riascos. 2006. Crecimiento y sobrevivencia del pargo *Lutjanus argentiventris* (Pisces: Lutjanidae) criado en jaulas flotantes con salinidades variables en el Estuario de la Bahía de Buanaventura. IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. CIVA 2006:1279-1285.
- Sakamoto, K., G. A. Lewbart y T. M. Smith II 2001. Blood Chemistry Values of Juvenile Red Pacu (*Piaractus brachypomus*). *Veterinary Clinical Pathology* 30(2):50-52.
- Santamaría-Miranda, A., J. F. Elorduy-Garay y A. Rojas-Herrera. 2003. Hábitos alimentarios de *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae) en las costas de Guerrero, México. *Rev. Biol. Trop.* 51(2):503-518.
- Sargent, J. R. 1995. Origins and Functions of Egg Lipids: Nutritional Implications. En: N. R. Bromage. and R. J. Roberts. *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science Ltd. Oxford: 353-372 pp.
- Sargent, J. R., J. G. Bell, M. V. Bell, R. J. Henderson y D. R. Tocher 1995b. Requirement criteria for essential fatty acids. *J. Appl. Ichthyol.* 11:183-198.
- Sargent, J. R., L. A. McEvoy y J. G. Bell. 1997. Requirements, presentations and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155:117-127.
- Sargent, J. R., D. R. Tocher. y J. G. Bell 2002. The Lipids. En: J. E. Halver and R. W. Hardy. *Fish Nutrition, Third Edition*. San Diego, California: 181-257 pp.

Serrano-Pinto, V. y J. Caraveo-Patiño. 1999. Survival of amarillo snapper *Lutjanus argentiventris* (Peters 1869) at different salinities in captivity. *Aquaculture Research* 30:467-470.

Sire, M.-F., C. Lutton y J.-M. Vernier 1981. New views on intestinal absorption of lipids in teleostean fishes: an ultrastructural and biochemical study in the rainbow trout. *Journal of Lipid Research* 22:81-94.

Svoboda, M., J. Kouril, J. Hamackova, P. Kalab, L. Savina, Z. Svobodova y B. Vykusova. 2001. Biochemical Profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre-and postspawning period. *Acta Vet. Brno.* 70:259-268.

Takei, Y. y C. A. Loretz 2006. Endocrinology. En: D. H. Evans and J. B. Claiborne. *The Physiology of Fishes* 3rd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida: 271-318 pp.

Tavares-Dias, M. y F. R. Moraes 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology* 71:383-388.

Tripathi, N. K., K. S. Latimer y V. V. Burnley 2004. Hematologic reference intervals for koi (*Cyprinus carpio*), including blood cell morphology, cytochemistry, and ultrastructure. *Veterinary Clinical Pathology* 33(2):74-83.

Tucker, J. J. W. 1998. *The future of marine fish culture*. Kluwer Academic Publishing. Norwell, Massachusetts, USA. 750 pp.

Wagner., T. y J. L. Congleton 2004. Blood-chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61:1066-1074.

Wilson, R. P. 2002. Amino Acids and Proteins. En: J. E. Halver and R. W. Hardy. *Fish Nutrition Third Edition*. Academic Press. San Diego: 143-179 pp.

Zarza- Meza, E. A., J. M. Berruecos-Villalobos, C. Vásquez-Peláez y P. Álvarez-Torres. 2006^a. Experimental culture of snook *Centropomus undecimalis* y chucumite *Centropomus parallelus* (Perciformes: Centropomidae) in artesal earthen ponds. *Ciencias Marinas* 32(2):219-227.

Zarza- Meza, E. A., J. M. Berruecos-Villalobos, C. Vásquez-Peláez y P. Álvarez-Torres. 2006^b. Experimental culture of common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) and fat snook *Centropomus parallelus* (Poey, 1860) (Perciformes:

Centropomidae) in freshwater in concrete pond in Alvarado, Veracruz, Mexico. *Veterinaria México* 37(3):327-333.