

# Capítulo 1:

## Introducción General



## 1.1. GENERALIDADES DE LA DORADA

La dorada es un pez perteneciente a la Familia de los Espáridos, dentro del Orden Perciformes. Este Orden es el grupo más numerosos de los teleósteos, con más de 140 Familias y unos 1250 géneros.

Como características morfológicas de la Familia *Sparidae*, incluida en este caso *Sparus aurata*, las doradas presentan un cuerpo oval y lateralmente comprimido. El cuerpo en la dorada es bastante alto en relación con las demás especies de esta Familia. De igual manera, la cabeza (bastante arqueada) es especialmente robusta. La dorada alcanza una talla máxima de 70 cm (Terofal, 1990), y un peso aproximado de 5 kg (Serra, 1999).

Los espáridos tienen una aleta dorsal completa, espinosa solo en parte, y una aleta anal corta. La aleta caudal es grande y escotada, las pectorales falsas (no unidas al esqueleto) y las aletas pélvicas se encuentran en posición torácica (presentan una espina y cinco radios). En el caso de la dorada la aleta caudal además de arqueada, se encuentra bordeada de color negro y en la parte media de la aleta dorsal es visible una banda oscura (Bauchot y Pras, 1987).

Los organismos de esta familia presentan formas de dientes muy variadas (incisivos, molares, caninos, etc.), tienen de 3 a 4 hileras de dientes molares en el maxilar inferior y de 4 a 5 en la superior, siendo más fuertes los dos molares externos (Terofal, 1990); además tienen entre 4 y 6 dientes caninos fuertes en el centro de cada maxilar. A los lados se encuentran dos filas de dientes más obtusos que se vuelven molariformes por detrás (Bauchot y Pras, 1987).

La boca en la dorada es pequeña y de posición inferior, con mandíbulas poco extensibles y de labios gruesos. La mandíbula superior es ligeramente más prominente que la inferior.

La dorada presenta escamas ctenoideas en todo el cuerpo (entre 75 y 85 en la línea lateral) y pectinadas en la cabeza. El color de la dorada varía según el lugar en el que habita. Comúnmente presenta el dorso gris azulado (metálico) con los flancos plateados, la cara ventral blanquecina, una mancha dorada sobre la frente y entre los ojos (palidece rápidamente después de la muerte). Presenta una mancha negra en el opérculo (el cual carece de espinas), subrayada frecuentemente de color rojo.

Otros miembros de la Familia *Sparidae* son el besugo (*Pagellus bogaraveo*), la dorada gris o chopá (*Spondyliosoma cantharus*), la mojarra (*Diplodus vulgaris*), la herrera (*Lithognathus mormyrus*), el pargo común (*Pagrus pagrus*) y el dentón (*Dentex dentex*), los cuales son confundidos en algunas ocasiones con la dorada común o dorada europea *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758=*Chrysophrys aurata*, Cuv. y Val.).

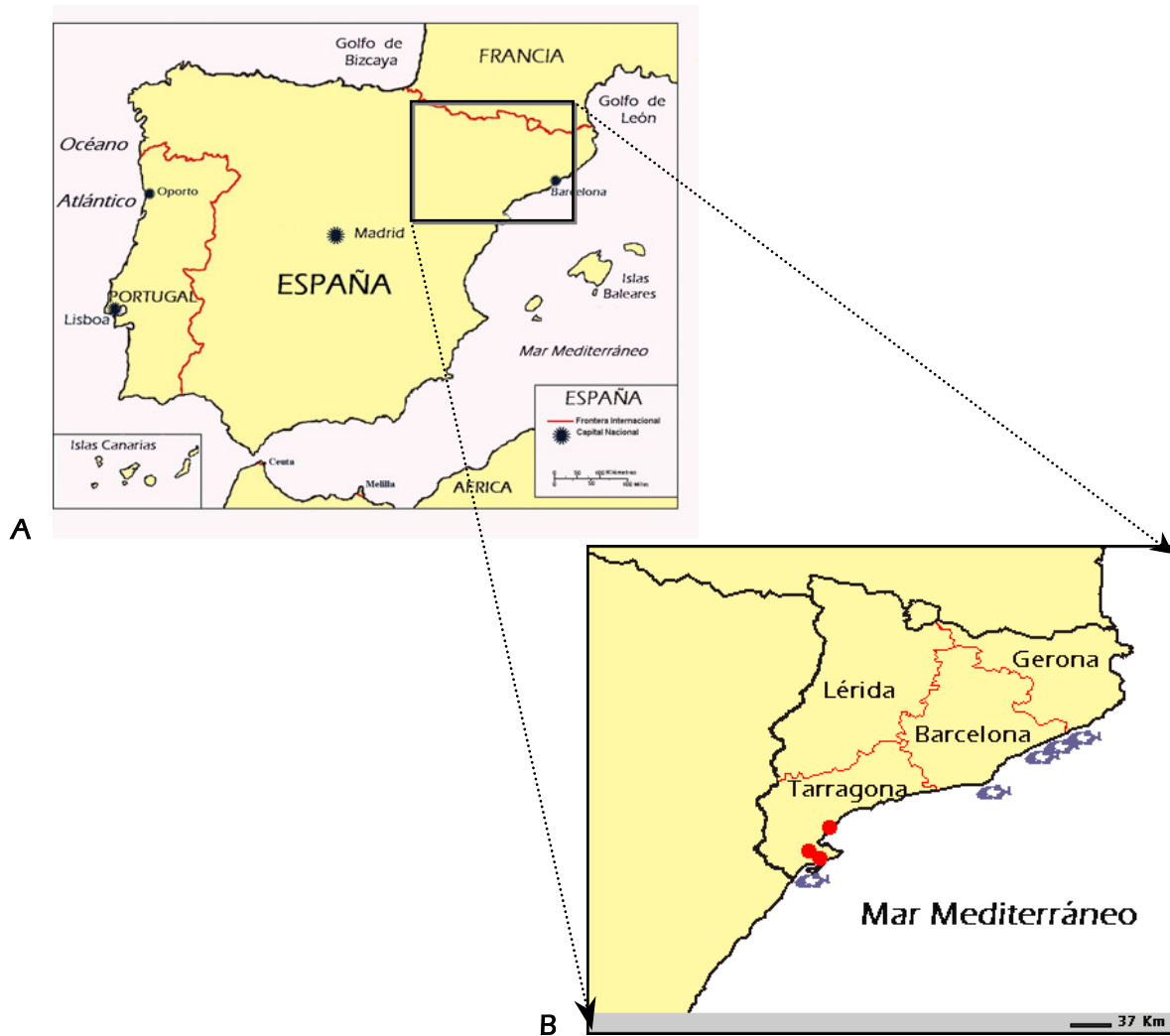
Los espáridos son peces omnívoros, con preferencias carnívoras en la mayoría de los casos, y vegetarianas en algunos (Bauchot y Pras, 1987). La alimentación se incrementa en el mes de mayo y disminuye hacia el mes de noviembre coincidiendo con el inicio de la puesta y la bajada de temperatura en el medio. La dorada es un pez eminentemente carnívoro y presenta una diversidad alimenticia relacionada a la talla del individuo. De esta manera, los ejemplares más jóvenes se alimentan de poliquetos y pequeños crustáceos, mientras que los individuos mayores se alimentan sobre todo de moluscos, lamelibranquios, gasterópodos y crustáceos (García-Badell, 1988).

La dorada tiene un ciclo biológico proterándrico, es decir, que la mayoría de los individuos comienzan su ciclo de vida siendo machos y al cabo de 2-3 años se transforman en hembras. La primera maduración sexual como machos se lleva a cabo cuando el animal alcanza los 250-300 gramos de peso, es decir, entre el segundo y tercer año de vida (Castelló-Orvay, 1993). El cambio de sexo es difícil de predecir en cada caso. A la edad de 2 años ( $\leq 300$  gr), el 100% de las doradas son machos y a la edad de 3 años (600-800 gr) sigue siendo mayor la proporción de machos, lo cual disminuye rápidamente al llegar a la edad de 4 años (800-1000 gr); observándose solamente hembras en ejemplares de más edad (Arias, 1980; Calderer y Cardona, 1993). En resumen, el cambio de sexo se inicia en el tercer año de vida una vez que los machos han realizado la primera maduración y termina hacia el cuarto año. A veces se encuentran casos en que los organismos no realizan este cambio de sexo, siendo machos toda su vida (Arias, 1980).

La reproducción en el Mediterráneo se lleva a cabo entre octubre y diciembre, cuando la temperatura baja a 19°C, aunque algunas veces puede alargarse hasta febrero-abril. Las gónadas maduran durante los meses de septiembre y octubre, realizándose la puesta en el mes de noviembre (Castelló-Orvay, 1993), cuando el agua se encuentra entre 14-15°C. La puesta parece abarcar un intervalo corto de tiempo y en diciembre las hembras la han finalizado ya, llevándose a cabo la fertilización de forma simultánea (García-Badell, 1988). En estado natural, una hembra puede llegar a producir hasta un millón de óvulos por kilogramo de pez. Los óvulos que han sido exitosamente fecundados flotan en la superficie del agua mientras que aquellos que no se fecundaron tienden a hundirse y permanecer en el fondo (Castelló-Orvay, 1993).

La dorada *Sparus aurata* es común en el Mar Mediterráneo, y muy raramente se le encuentra en el Atlántico tropical, Gran Bretaña o el Mar Negro. Coloniza el Atlántico Oriental desde las Islas Británicas (donde se considera ocasional) hasta Senegal, incluyendo Islas Azores (Portugal) e Islas Canarias (España). La dorada frecuenta zonas litorales poco profundas con fondos arenosos, lagunas de agua salobre y puertos durante el verano, pero en invierno vive a profundidades mayores de 30 m. Tiene costumbre de formar grupos pequeños, siendo un pez cauteloso y desconfiado, aunque de defensa enérgica cuando es necesario (Bauchot y Pras, 1987).

En España la dorada se encuentra comúnmente en el mar Mediterráneo y más raramente en el Cantábrico. Siendo la dorada una especie cautelosa de regiones someras, se le encuentra a la sombra de las grandes rocas formando grupos reducidos en primavera y verano. En cambio, durante los meses más frescos se le encuentra formando grandes grupos sobre bancos de arena o fango de las regiones de aguas salobres, inclusive penetran en las lagunas costeras aprovechando que soportan altas variaciones de salinidad (entre 4 y 70 psu), aunque lo hacen temporalmente y solo como un comportamiento relacionado a la alimentación. La dorada también es un animal euritermo (soporta un amplio rango de temperaturas, entre 5 y 30°C), pero es muy sensible al frío y puede morir si hay un cambio repentino de temperatura (Terofal, 1990) o si la temperatura desciende por debajo de los 5°C (Castelló-Orvay, 1993).



**Figura 1-1.** Zonas de pesca de la dorada *Sparus aurata* en las costas de España (A) y zonas de cultivo en las costas de Cataluña (B): tanques en tierra solo en el área del Delta del Ebro (círculos) y jaulas flotantes (peces) en el resto del litoral catalán.

La dorada es muy apreciada comercialmente debido a que posee una carne de excelente textura y sabor, al igual que otros componentes de la familia *Sparidae* (Guinea, 1993). En Cataluña se encuentran representadas otras dos especies de esta familia muy apreciadas, que a pesar de tener muchas espinas, su carne es muy sabrosa. Estas especies son los pargos *Pagrus* (= *Sparus*) *pagrus* y *P. caeruleostictus* (Castelló-Orvay, 1993; Serra, 1999). Ya en la antigüedad, la carne de la dorada fue muy apreciada por los griegos y por los romanos que la criaban en inmensos viveros (Bauchot y Pras, 1987). Las artes de pesca más utilizadas en su captura son los palangres, las redes y a veces el sedal, aunque los aficionados utilizan las cañas (Bauchot y Pras, 1987).

### 1.1.1. Antecedentes de la piscicultura.

Hasta hace pocos años en Europa, el cultivo de la dorada así como de otras especies de peces, era prácticamente una utopía debido a la gran dificultad para desarrollarlos y que además fueran rentables. En algunos países como España, Portugal, Grecia e Italia se practicaban cultivos extensivos que eran poco rentables. Lo anterior se basaba en aprovechar cuerpos de agua someros en la costa (esteros y lagunas costeras) y encerrar

en estas áreas los alevines y juveniles que entraban a alimentarse, con el objetivo de engordarlos. La producción en los esteros y lagunas costeras, era limitada porque solo podía hacerse un encierro al año, durante la temporada en que los alevines entraban a las lagunas; por otro lado, la cantidad de alevines que entraban en el encierro era reducida.

En el sur de Europa, desde los años 60 se ha producido un enorme desarrollo técnico relacionado con el cultivo de peces marinos, tales como el rodaballo (Person-Le Ruyet, *et al.*, 1997a), la lubina y la dorada (Jones *et al.*, 1987; García-Badell, 1988; Person-Le Ruyet, *et al.*, 1995, 1997b); este impulso tecnológico se apoya en las técnicas importadas del Japón y Estados Unidos, con desarrollo posterior en España, Francia e Italia, permitiendo que la actividad acuícola sea interesante desde un punto de vista económico. Lo anterior, aunado a un mejor conocimiento sobre la biología de las especies locales, aporta un interés por el engorde comercial de peces como una alternativa a la pesca.

Las especies más utilizadas para la acuicultura en Europa son la lubina, la dorada, el salmón y los peces planos como el rodaballo, desde que Barnabé y René (en Barnabé, 1991) hicieran en 1973 los primeros ensayos sobre el cultivo de la dorada *Sparus aurata* (incluyendo las fases de inducción a la puesta, la incubación y el cultivo larvario). De hecho, las técnicas de cultivo de la lubina y la dorada se han desarrollado paralelamente, adaptando solo algunos factores diferenciales en cada fase del cultivo. Estos factores son la temperatura, la salinidad y el fotoperiodo.

El control de las condiciones ambientales es muy importante para la dorada en cada una de las fases de cultivo, pues se sabe que por debajo de 12°C el crecimiento se detiene, la muerte sobreviene por debajo de 5°C y se necesita una temperatura entre 24 y 26°C para un crecimiento óptimo. En cuanto a la salinidad, para la puesta es óptima entre 33 y 35 psu, entre 30 y 50 psu para el desarrollo de los huevos, y entre 15 y 25 psu para el crecimiento larvario (Freddi *et al.*, 1984; en Barnabé, 1991; Bautista-Parejo, 1993; Castelló-Orvay, 1993). Otro aspecto importantísimo para el cultivo de la dorada es el oxígeno disuelto, que debe mantenerse entre 5 y 8 mg O<sub>2</sub>/litro durante la cría larvaria y lo más cercana a la saturación durante el engorde (8-9 mg O<sub>2</sub>/litro) (Calderer y Cardona, 1993).

En los últimos diez años, la producción acuícola de peces en Europa ha presentado un crecimiento anual del 12% y actualmente significa casi el 30% de la producción total (contando la pesca de las poblaciones naturales). Algunas especies han tenido un espectacular aumento; por ejemplo, el salmón cultivado alcanzó en 1997 una producción de 600 000 Tm, mientras que la lubina y la dorada excedieron las 40 000 Tm (MAPA<sup>1</sup>, 2001).

Como la dorada *Sparus aurata* es un teleósteo muy común en el Mar Mediterráneo, es muy utilizada en la actividad piscícola del área desde los años 80 (Vergara *et al.*, 1996a), tanto en instalaciones terrestres como en jaulas flotantes (Le-Breton, 1994; en Guinea y Fernández, 1997). En 1994 la producción europea total entre lubina, lenguado y dorada (especies de mayor interés comercial) fue de aproximadamente 35 000 toneladas (Person-Le Ruyet, *et al.*, 1995), mientras que en el año 2000 superaron las 120 000 toneladas (Tidu, 2001).

Después de la entrada de España en la Unión Europea (UE), la acuicultura marina comenzó a desarrollarse a gran escala gracias al acceso a las subvenciones europeas y al apoyo por parte de la administración estatal. A pesar de las grandes ayudas económicas y técnicas recibidas, los resultados no correspondieron a las expectativas, debido probablemente a que muchos de los proyectos no eran económicamente viables (MAPA, 2001; Tidu, 2001). Después de algunos años de crisis de este sector a principios de los

---

<sup>1</sup> Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno de España

noventa, muchas de las instalaciones desaparecieron, pero hoy el cultivo de dorada y de lubina está en rápida expansión. La producción acuícola española de la dorada fue en 1992 de 1687.8 toneladas (que junto con la lubina supuso económicamente, 2400 millones de pesetas ese año), incrementándose un 37.78% para 1995 (2712.91 Tm) y a su vez 28.94% entre 1995 y 1996 (3818 Tm en 1996). Las perspectivas de producción para el año 2000 en España eran de 10 000 Tm de dorada y 6 000 Tm de lubina (García-Alcázar *et al.*, 1994), aunque solo se han alcanzado 8 500 Tm para la dorada y 2 500 Tm para la lubina (MAPA, 2001). El 90% de la producción de estas dos especies se lleva a cabo principalmente en la costa del Mediterráneo, en las comunidades autónomas de Andalucía (50% del total), Cataluña (20% del total), Valencia (10%) y Murcia (10%); el resto de la producción se lleva a cabo en Galicia, Cantabria e Islas Canarias.

Al igual que para España, en 1996 el crecimiento de la industria acuícola era ya importante en Cataluña (tabla I.I). Lo cierto es que tanto en el estado español como en Cataluña, la principal especie piscícola de cría marina es la dorada (Chifré-Petit, 1997). La tendencia de la producción acuícola de la dorada sigue un comportamiento parecido en Cataluña y el resto de España, es decir, hay una estabilización de la misma aproximadamente cada dos años, presentando un crecimiento importante al año siguiente. La previsión futura es que la producción acuícola siga incrementándose debido al aprovechamiento de nuevas áreas dedicadas a esta actividad, a la aparición de nuevas empresas y a la consolidación de las empresas ya existentes (se prevé la instalación de 150 jaulas nuevas); así como a un aumento de la eficiencia en las técnicas de cultivo y mejoras en el aprovechamiento de los piensos.

En Cataluña, la producción global de dorada (tanto por piscicultura como por pesca) se ha incrementado de forma importante durante los últimos 10 años, pasando de ser solo el 0.41% de la producción total española en 1992, a significar el 18.43% en 1999 (tabla I.I).

**Tabla I.I.** Evolución de la producción acuícola de dorada en España y Cataluña para el periodo 1992-1999.

AÑOS	Producción acuícola (toneladas/año)		
	España	Cataluña	Cataluña vs España (%)
1990	565	–	–
1991	1675	–	–
1992	1687.8	6.92	0.41
1993	2014.5	237.0	11.76
1994	2094.3	226.6	10.82
1995	2712.9	452.33	16.67
1996	3818.1	460.12	12.05
1997	4717.9	562.92	11.93
1998	5491.5	789.65	14.38
1999	6117.3	1127.68	18.43
2000	8500	–	–

La evolución que presenta en Cataluña la producción de dorada cultivada es muy interesante, pues en la última década se ha incrementado de manera importante, tomando un peso muy alto en relación a la producción por pesca (tabla I.II). Ha pasado de representar un 4.4% de la producción total en 1992, a representar un 83.88% en 1999. Una de las razones para este cambio se debe a que la industria extractiva ha alcanzado sus máximos niveles de producción, afectando de una manera importante a las comunidades naturales de dorada, que prácticamente ha desaparecido de las zonas costeras donde solía habitar (Serra, 1999). En contraste, la piscicultura está alcanzando

una consolidación debido a la mejora de las técnicas de cultivo, lo cual permite hacer más eficiente la actividad, incrementando los niveles de producción. Se prevé que la producción de la dorada cultivada siga en aumento en los próximos años.

**Tabla I.II.** Evolución de la producción pesquera y acuícola de dorada en Cataluña para el periodo 1992-1999.

AÑOS	Producción Pesquera (kg)	Producción Acuícola (kg)	Porcentaje 100*(Cultivo/Total)
1992	150 485	6 920	4.4
1993	194 084	237 000	54.98
1994	127 960	226 600	63.91
1995	163 288	452 328	73.48
1996	187 691	460 124	71.03
1997	212 932	562 918	72.55
1998	226 671	789 653	77.7
1999	216 787	1 127 675	83.88

La crisis de la industria pesquera de la dorada está relacionada con problemas ligados al esfuerzo de pesca y al arte de pesca utilizado. Las artes de pesca empleadas con la dorada *Sparus aurata* son principalmente el trasmallo y la red de arrastre, aunque también se usa la red de cerco y algún arte de pesca local, como la pantena en el delta del Ebro. La temporada de pesca tiene lugar en el otoño, época en que se da la maduración sexual y la puesta. El alto esfuerzo pesquero, junto con la utilización de la red de cerco, ha llevado a la reducción de las comunidades naturales de dorada (Bermúdez *et al.*; 1987; Rivas *et al.*; 1987; Vergara y Jauncey, 1991; Kalogeropoulos *et al.*, 1992).

Debido al decaimiento de las pesquerías de dorada en España, junto con la creciente demanda de este recurso, la piscicultura se hace una alternativa muy interesante para cubrir la demanda del mercado. Por lo mismo se hace imprescindible que la investigación sobre la producción artificial en cultivos intensivos se estimule (Bermúdez *et al.*; 1987; Rivas *et al.*; 1987; Vergara y Jauncey, 1991).

El objetivo en la industria acuícola de la dorada es alcanzar las tallas comerciales en el menor tiempo posible. Hasta 1985 se mencionan tallas comerciales que variaban entre los 200-250 gr, las cuales se alcanzaban entre 12 y 16 meses de engorde (Jones *et al.*, 1987; y diversos autores en Bermúdez *et al.*, 1987; Guinea, 1993), o hasta 2 años en los esteros de Cádiz (Arias, 1980). Actualmente la talla más comercializada en España por la empresa *Alevines y Doradas, S. A.* (ADSA, perteneciente al grupo *TINAMENOR*), es de 400-600 gramos (aunque se comercializan tallas hasta 1200 gr), siendo considerados como subproductos por debajo de este peso. En sus instalaciones de Gran Canaria alcanzan esta talla entre los 14-15 meses de cultivo (D. Juan Gómez<sup>2</sup>, comunicación personal, 2001).

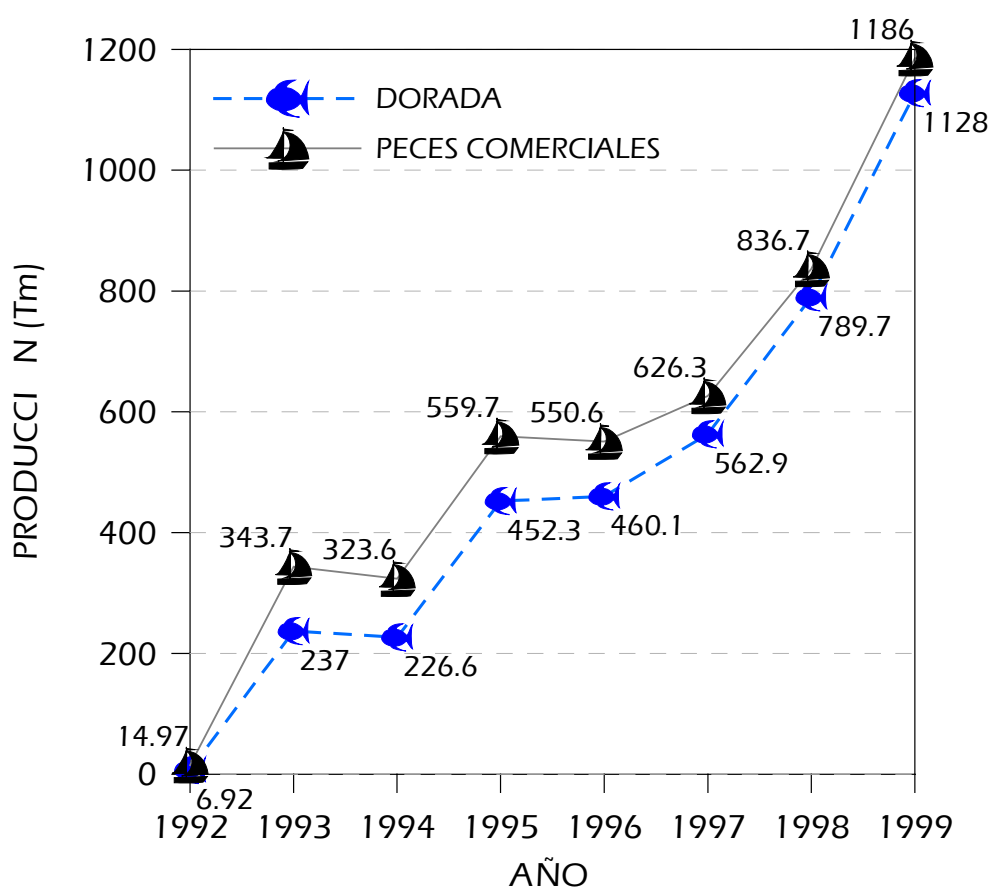
En Cataluña se cría a las doradas en jaulas flotantes (instalaciones *off shore*), ancladas a los fondos marinos o en tanques excavados en tierra. En 1996, de las 460 Tm producidas en Cataluña, el 78.5% correspondieron a las jaulas flotantes (Tidu, 2001). En 1997 existían 13 empresas dedicadas a esta actividad, criando preferentemente doradas pero también otras especies como la lubina, la lisa, la anguila, la ostra y la almeja. De estas empresas, 6 cultivaban las doradas en jaulas flotantes en un cultivo intensivo y 7 en estanques en una

<sup>2</sup> Jefe de la sección de engorda de *Alevines y Doradas, S. A.* en Gran Canaria (España).



cría semi-intensiva. Las instalaciones dedicadas a la cría de dorada en jaulas flotantes se encuentran repartidas a lo largo de la costa catalana, encontrándose en Les Cases d'Alcanar, l'Ametlla de Mar, l'Ampolla, Arenys de Mar, Blanes y Sant Feliu de Guíxols (ver figura 1-1). Posteriormente se han tramitado dos proyectos para realizar esta actividad en los municipios del Masnou y Vilanova i la Geltrú. En lo que respecta a la cría de doradas en tierra, la mayoría de las instalaciones se encuentran ubicadas en el Delta del Ebro en los Municipios de Amposta, San Carles de la Rápita y Poblenou del Delta (Chifré-Petit, 1997).

Respaldando la importancia que la producción acuícola de la dorada tiene en Cataluña, desde principios de los años 90 representa la especie comercial con mayor peso. Ya en 1992 (ver figura 1-2 y tabla I.III), la producción de dorada cultivada significó el 46% de la producción total, contra el 45.4% de la lubina, 5% de la anguila y el 3.3% de la lisa. Debido al crecimiento descrito desde 1992, la producción de dorada por cultivo en 1999 representó el 95.1% de la producción de especies comerciales, seguida de la lubina con 4.75%, la lisa con 0.11% y la anguila con 0.00025%.



**Figura 1-2.** Evolución de la producción acuícola de la dorada *Sparus aurata*, frente a la producción acuícola total de los peces comerciales en Cataluña, durante el periodo 1992-1999.

Según datos de la *Dirección General de Pesca y Asuntos Marítimos*<sup>3</sup> (Chifré-Petit, 1997), el valor de primera venta para dorada procedente de cultivo entre 1992-1996 no varió significativamente y se mantuvo alrededor de 1025 pts/kg. Sin embargo, en 1999 este valor se ha reducido hasta 891.83 pts/kg, debido al incremento de la oferta por esta

<sup>3</sup> Departamento de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Generalitat de Cataluña

actividad. En contraste, el valor de la dorada procedente de pesca ha variado en el periodo 1992-1999, debido a la cada vez menor disponibilidad del recurso, y en 1999 el valor por kilogramo fue de 1069.9 pesetas.

**Tabla I.III.** Evolución de la producción acuícola de dorada y otras especies de interés económico en Cataluña durante el periodo 1992-1999.

ESPECIE	Producción por cultivo (toneladas/año)							
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Dorada	6.92	237.0	226.6	452.33	460.12	562.92	789.65	1127.68
Lubina	6.8	76.0	84.0	97.12	85.29	54.37	45.35	56.34
Lisa	0.5	2.2	2.0	1.7	2.9	4.3	0.95	1.3
Anguila	0.75	20.0	11.0	8.58	2.3	3.0	0.73	0.3
<b>TOTAL</b>	<b>14.97</b>	<b>335.2</b>	<b>323.6</b>	<b>559.73</b>	<b>550.61</b>	<b>624.59</b>	<b>836.68</b>	<b>1185.62</b>

### 1.1.2. Impacto de las piscifactorías sobre el medio acuático.

#### *Residuos provenientes de las piscifactorías.*

Dentro de las actividades humanas que ejercen una presión sobre el medio se encuentra la piscicultura, tanto en aguas interiores como en aguas costeras, incluyendo cultivos de agua dulce, salobre y marina. La presión sobre el medio acuático se ha centrado en zonas tan sensibles y de gran importancia por su interés ecológico, tales como: ríos, lagos, lagunas costeras (marismas, esteros, estuarios, etc) y la zona costera (Jobling, 1994; Howarth *et al.*, 2000; MAPA, 2001).

Para España la piscicultura tiene particular interés debido, entre otras razones, a la alta demanda de pescado (es, detrás de Japón, el segundo país consumidor de pescado), y a la larga, profunda e irreversible crisis de su sector pesquero (por razones políticas y naturales como el establecimiento de las 200 millas y el agotamiento de la plataforma continental). (Barnabé, 1991; MAPA, 2001).

La acuicultura repercute sobre el medio acuático con la generación de residuos, que se vierten en muchas de las ocasiones, sin un tratamiento previo (Clark, 1989; Loran-Benavent, 1990). En este aspecto, el grado de afectación de los residuos sobre el medio va a depender del tipo de cultivo empleado y de la especie cultivada. En el caso de los sistemas extensivos, el impacto sobre el medio va a depender sobre todo de la propia actividad biológica de los animales cultivados y de la cantidad de organismos (carga biológica del cultivo). En el caso de los cultivos intensivos, la incidencia fundamental sobre este aspecto la ejercen dos factores: el aporte de la alimentación y la utilización de productos químicos en las operaciones de limpieza y mantenimiento de las instalaciones (MAPA, 2001). Estos residuos no solo afectan al medio ambiente y sus recursos, sino que su incidencia en el medio puede llevar a pérdidas grandes en la producción, e incluso a la inutilización del agua contaminada para otros usos (Bautista-Parejo, 1993).

En España, aunque se cuenta con 5000 kilómetros de costas, tradicionalmente la piscicultura marina se ha centrado desde los años 70 en algunos lugares como las costas de Tarragona (de manera especial en el Delta del Ebro) y la Costa andaluza (las marismas y esteros de Cádiz). Más recientemente han surgido piscifactorías económicamente sostenibles en la costa Cantábrica y en las Islas Canarias. Debido a la cantidad de zonas aptas para el cultivo extensivo y/o semi-intensivo y al mejor conocimiento de las técnicas de cultivo de algunas especies, se prevé un crecimiento importante de este sector en

España en los años venideros. Dicho crecimiento repercutirá en el incremento de residuos orgánicos y de nutrientes liberados al medio (Bauchot y Pras, 1987; MAPA, 2001).

En base a lo anterior, es de vital importancia conocer los componentes de estos residuos, las vías y condiciones de vertido, así como su destino final, los efectos que provocan sobre el medio y que sectores se ven alterados. Una vez respondidas las cuestiones anteriores debería realizarse un plan de medidas para reducir los efectos de las descargas provenientes de las piscifactorías.

### ***Residuos comunes provenientes de la acuicultura y sus efectos.***

Como veremos en el siguiente capítulo, el aprovechamiento del alimento por los peces determina la calidad de las aguas residuales en las piscifactorías. El alimento no ingerido, junto con las heces y compuestos disueltos excretados por los peces son los principales componentes de los efluentes de esta actividad.

Los parámetros característicos de la contaminación liberada al medio directa o indirectamente están relacionados con la presencia de materia orgánica, bien en forma de sólidos en suspensión, o bien como nutrientes disueltos (fósforo y nitrógeno). En el caso de tratamientos con productos químicos hay que considerar la ecotoxicidad que presentan estos productos (MAPA, 2001).

Cuando los organismos son alimentados, parte del alimento es ingerido y otra parte no. La parte de alimento no ingerido, junto con las heces, permanece en el medio como materia orgánica en descomposición, lo cual supone un incremento en la demanda de oxígeno. La materia orgánica en suspensión tiende a sedimentar en zonas próximas a los puntos de vertido, modificando la estructura de las comunidades bentónicas. Si estas zonas son utilizadas para la puesta, el material orgánico cubre los huevos y pueden llegar a asfixiarlos (MAPA, 2001). Dentro de los cultivos, los restos orgánicos sedimentados son un sustrato para las colonias bacterianas y de protozoarios, lo cual incrementa la velocidad de descomposición y la demanda de oxígeno; esto puede conducir a la reducción de los niveles de oxígeno en el medio de cultivo y áreas adyacentes a este (Black, 2001; MAPA, 2001).

En el caso de los nutrientes como el fósforo y el nitrógeno, su abundancia puede provocar fenómenos de eutrofización. Más del 50% del nitrógeno ingerido por los peces puede ser aportado al medio acuático como excretas (Tátrai, 1986; Leung *et al.*, 1999). Los peces pueden excretar el nitrógeno en forma de amonio, urea, ácido úrico, y aminoácidos (Porter *et al.*, 1987; Jobling, 1994; Boyce, 1999; Leung *et al.*, 1999). La mayoría de los peces son amoniotélicos, lo que significa que entre el 70 y 90% de nitrógeno excretado lo hacen en forma de amonio (Tátrai y Penczak, 1985; Brafield, 1985; Dosdat *et al.*, 1996). Este se forma en el hígado como producto de la hidrólisis de las proteínas y posterior desaminación de los aminoácidos, excretándose de forma pasiva a través de las branquias y la piel (Jobling, 1994). La urea es otra forma importante en la que el nitrógeno es excretado y supone entre el 5 y 15% del nitrógeno total excretado, según Dosdat y col. (1996).

Según Jobling (1994) el amonio es el metabolito más tóxico de los productos nitrogenados finales, por lo que es el principal limitante de la biomasa y densidad de peces en los cultivos intensivos (Leung *et al.*, 1999). Hay que matizar que el amonio en el medio acuático se encuentra en dos formas: como amonio ionizado ( $\text{N-NH}_4^+$ ) y como amonio no ionizado o amoniaco (ANI ó  $\text{NH}_3$ ), de los cuales el ANI representa la fracción verdaderamente tóxica debido a que tiene una difusión sumamente alta a través de las branquias (Ramanrine *et al.*, 1987; Jobling, 1994; Leung *et al.*, 1999).

Hay dos cuestiones a tener en cuenta respecto al problema del amonio residual: los aspectos que tienen que ver con los niveles producidos y las condiciones ambientales que incrementa su toxicidad en el medio acuático.

En el caso del amonio, hay diversos factores relacionados con su producción en las piscifactorías. Estos factores están relacionados con las propiedades del alimento aportado, con el régimen de alimentación y con algunas condiciones del medio y del animal (Ackefors y Enell, 1994; Jobling, 1994; Boyce, 1999).

Algunos factores relacionados con el alimento son el tipo de nutrientes y la proporción entre ellos. Si la cantidad de proteínas ingeridas es mayor que los requerimientos del organismo o si los aminoácidos que las componen están pobremente balanceados (consultar sección 1.2.4.1), se incrementa la desaminación y se excreta mayor cantidad de amonio (Porter *et al.*, 1987; Jobling, 1994). El aumento en la alimentación (número de tomas durante el día, nivel de la ración) puede incrementar las tasas de excreción de amonio (Ramanrine *et al.*, 1987; Leung *et al.*, 1999). Otros factores ambientales como la temperatura incrementan el metabolismo de los peces y repercute en una mayor excreción de amonio. El tamaño de los peces y su estado de salud (Cui y Liu, 1990; Jobling, 1994) también están relacionados con los niveles de excreción de amonio.

El peligro que representa el amonio en el medio acuático se debe a su toxicidad a niveles relativamente bajos. La toxicidad viene dada por la proporción de amonio no ionizado que se encuentra en el agua. Dicha proporción está controlada por algunos factores fisico-químicos como el pH y la temperatura. También por la salinidad, aunque en menor grado (Bower y Bidwell, 1978; Jobling, 1994). Un aumento, tanto del pH como de la temperatura, llevan a un incremento de la fracción del amonio no ionizado y consecuentemente, a una mayor toxicidad del amonio para el pez. La salinidad presenta una relación inversa, es decir, que conforme la salinidad se incrementa, el grado de toxicidad del amonio es menor debido a que la fracción de ANI se reduce.

En el medio acuático, la excreción de amonio puede dar lugar a la eutrofización del mismo, causando florecimientos algales a nivel local (Leung *et al.*, 1999), lo cual sucede también dentro de los tanques de las piscifactorías. En los tanques de cultivo, los florecimientos algales reducen la concentración de oxígeno disuelto durante la noche, lo cual puede llevar a condicionar la supervivencia de los peces (Person-LeRuyet *et al.*, 1995).

Se ha publicado muy poca información sobre los impactos de la piscicultura en el Mar Mediterráneo, donde se ha producido una fuerte expansión en la industria de la piscicultura marina. Debido a su restricción natural, el Mediterráneo tiene un rango mareal insignificante, y las corrientes están provocadas sobre todo por los vientos y diferencias de densidad. La temperatura del agua es mayor en el Mediterráneo que en el Atlántico, y algunas áreas son altamente oligotróficas siendo el fósforo un nutriente más limitante que el nitrógeno (Krom *et al.*, 1991; en Black, 2001). Mac Dougall y Black (1999, en Black, 2001) examinan los impactos bentónicos provocados por los cultivos de lubina y dorada en Grecia. Encontraron que el efecto de la actividad acuícola sobre el ambiente bentónico alrededor de las jaulas es mucho menor que las encontradas típicamente en áreas eutróficas como las lagunas costeras de Escocia.

La toxicidad en los peces se manifiesta principalmente como alteraciones neurológicas, con respuestas agudas que incluyen la hiperventilación, natación errática, convulsiones, coma y finalmente la muerte (Jobling, 1994). También hay cambios histopatológicos en la estructura de las branquias, con un aumento de la membrana epitelial asociada a la hiperplasia. Los cambios estructurales en las branquias están asociados a una exposición crónica al amonio. La estructura de la segunda lamela se puede romper, lo cual lleva a una

reducción de la superficie a través de la cual se lleva a cabo el intercambio gaseoso, limitando su efectividad. Los síntomas que se pueden presentar por una toxicidad crónica incluyen la hiperplasia del epitelio de las branquias y la fusión de la segunda lamela.

Hay otros efectos del amonio sobre el comportamiento de los peces. Uno de ellos es el estrés provocado por una exposición prolongada a altas concentraciones de amonio. El estrés lleva al pez a dejar de alimentarse, provocando una reducción o desaparición del crecimiento y, a la larga, un decaimiento de las defensas del organismo, haciendo que el pez sea más susceptible a enfermedades que le causan la muerte (Knights, 1985; Wajsbrot *et al.*, 1993; Person-LeRuyet *et al.*, 1997a). La exposición al amonio a largo término puede llevar a una disfunción en el riñón y daño en los tejidos del hígado. La exposición al amonio incrementa también el consumo de oxígeno, lo cual puede provocar una reducción en la disponibilidad del oxígeno disuelto en el medio acuático, que de prolongarse por mucho tiempo, lleva a una muerte por anoxia, además de reducir la tolerancia al amonio (Person-LeRuyet *et al.*, 1995). Según Person-LeRuyet *col.* (1997c), la exposición prolongada a las concentraciones de amonio presentes comúnmente en las granjas piscícolas, puede reducir la conversión del alimento en los peces y afectar sobre sus tasas de crecimiento.

En cuanto a la materia orgánica, esta puede causar eutrofización en el medio natural y ser causa de florecimientos algales (García-Parejo, 1993). Por otra parte, es un buen sustrato para las colonias bacterianas y de protozoarios, lo cual puede repercutir en infecciones que afectan a los peces, sobre todo en las branquias. La descomposición de la materia orgánica lleva asociado un incremento del consumo de oxígeno por parte de las bacterias que lo realizan (Black, 2001).

### ***Medidas para mitigar el efecto de los residuos.***

Ya hemos visto cuales son los principales componentes del agua residual proveniente de las piscifactorías, así como los efectos sobre el medio acuático y los mismos organismos cultivados, pero la pregunta clave sigue en el aire, ¿cómo mitigar sus efectos?

Para darle respuesta, es primordial comenzar por disminuir la producción de tales residuos o evitar que se produzcan. A medida que se mejoren las técnicas de administrar el alimento (para que todo sea consumido por los organismos) y los componentes de las dietas, en cuanto a cantidad, calidad y composición; se obtendrán mejores índices de utilización del alimento. Lo anterior, junto con la gestión adecuada del cultivo según la especie, puede introducir mejoras para prevenir o mitigar los efectos de la contaminación orgánica y de los nutrientes en el propio medio de cultivo y aguas abajo de las piscifactorías (Porter *et al.*, 1987; Ackefors y Enell, 1994). Es aquí donde la investigación y el desarrollo de programas tienen una importancia relevante.

Los últimos avances han llevado a obtener alimentos de alto valor energético, con una composición óptima adaptada a los requerimientos de energía de cada especie, lo cual puede traducirse en una disminución de las descargas orgánicas y de nutrientes a los sistemas acuáticos. Se han desarrollado aparatos para coleccionar residuos de alimento y heces (Ackefors y Enell, 1994). Por otro lado, aportar en el alimento una fuente apropiada de proteínas (con el perfil de aminoácidos adecuado para la especie) y la sustitución parcial de las proteínas en el alimento por carbohidratos o lípidos (según la especie), mejoran la utilización de las mismas y la conversión del alimento, lo cual es una solución para reducir la excreción de nitrógeno y los costos de producción de los peces (Rychly, 1980; Bromley, 1980; Cui y Liu, 1990; Brauge *et al.*, 1994, 1995; Ringø y Olsen, 1994).

Otro aspecto a ser tomado en cuenta es el tamaño de la ración de alimento. Se ha visto que entre el 15% y el 30% del alimento aportado a los peces no es ingerido y se desperdicia (Cui y Liu, 1990). Adecuar la ración de alimento de acuerdo a la especie cultivada, a la época del año (el metabolismo cambia con la temperatura) y a la talla del individuo, llevarán a elevar la eficiencia del alimento, reduciendo las entradas de materia orgánica (por alimento desperdiciado y heces) al medio acuático involucrado en la actividad piscícola.

Debido a que la toxicidad del amonio (relación  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ ) depende de algunos parámetros ambientales tales como el pH, la temperatura y la salinidad (Bower y Bidwell, 1978; Jobling, 1994), es necesario que estos sean vigilados, lo cual puede prevenir un incremento del amonio no ionizado, que lleven a los peces a sufrir exposiciones prolongadas al mismo. De esta manera se pueden implementar medidas que eviten la reducción de las tasas de conversión del alimento y del crecimiento de los peces, entre otros efectos.

El cultivo de peces en tierra contribuye al potencial de eutrofización de los cuerpos de agua localizados en la planicie costera (lagunas costeras y estuarios) y la zona cercana a la costa (bahías semi-cerradas), debido a la escasa o nula circulación que se presenta bajo ciertas condiciones a lo largo del año (Comín y Martín, 1993), relacionadas con la disponibilidad de agua y/o presencia de vientos. En estos casos la utilización de los diseños de cultivo en jaulas provee de una oportunidad para la actividad acuícola en cuerpos de aguas costeras abiertas, donde la ventaja es la gran dispersión y dilución de esta (Ackefors y Enell, 1994).

Otra ventaja de las jaulas sobre las instalaciones en tierra observada más recientemente a partir de la información disponible en el Mar Egeo, es que el impacto de la acuicultura parece ser cualitativamente diferente de aquellos descritos en otros sitios (Papoutsoglou *et al.*, 1996; en Black, 2001). En este ambiente oligotrófico, las zonas de cultivo se caracterizan por gran número de peces silvestres asociados a dichas jaulas de cultivo, además de peces que se han escapado de estas. Se les puede observar, no solo comiendo del alimento que es aportado a los peces cultivados, sino también pastoreando sobre las algas que crecen en las redes. Por ello, existe la hipótesis de que estos animales son responsables de consumir muchos de los residuos particulados generados alrededor de las jaulas.

Para evitar riesgos en el caso de los cultivos en estanques, se han de seleccionar los sitios con disponibilidad de agua suficiente para que, en casos de urgencia (bajas en los niveles de  $\text{O}_2$  y/o elevación del nivel de  $\text{NH}_4^+$ ), puedan llevarse a cabo intercambios de agua en su totalidad, de ser necesario. Con el fin de evitar altas cantidades de residuos nitrogenados y material orgánico en las aguas que llegan a los ríos y el mar provenientes de las actividades piscícolas, es necesario depurar estos efluentes, en la medida de lo posible, antes de descargarlos al medio acuático natural (Ackefors y Enell, 1994).

## 1.2. METABOLISMO Y APROVECHAMIENTO DE LOS NUTRIENTES EN PECES

Muchos trabajos describen el balance de los nutrientes en los peces en consonancia con la primera ley de la termodinámica en la que se establece la conservación de la energía (Lehninger, 1984; Calow, 1985; Weatherley y Gill, 1987; Smith, 1989). En otras palabras, los nutrientes provenientes del alimento ingerido son utilizados en varios procesos asociados al metabolismo animal. Las células del organismo obtienen energía a partir de los alimentos, mediante un conjunto altamente integrado de procesos físico-químicos que recibe el nombre de *Metabolismo* (Stryer, 1995). Los términos *Anabolismo* y *Catabolismo* hacen referencia a las reacciones de síntesis y degradación, respectivamente, de macromoléculas propias del organismo en las que participan los hidratos de carbono (o glúcidos), los lípidos (o grasas), las proteínas, los minerales y las vitaminas que son responsables de los procesos vitales. Este conjunto de reacciones metabólicas están estrechamente relacionadas (Lehninger, 1984; Stryer, 1995). Como las células que recubren las paredes del intestino solo pueden absorber moléculas relativamente pequeñas, para trasladarlas a la corriente sanguínea, los principales nutrientes (proteínas, carbohidratos y grasas) deben ser hidrolizados a sus monómeros para ser aprovechadas al máximo en el metabolismo del animal (Lehninger, 1984).

El metabolismo requiere una regulación precisa de las diferentes etapas del mismo, lo que se consigue fundamentalmente a través de la existencia de enzimas, la especialización celular, la carga energética y la diferenciación entre vías de síntesis y degradación (Cowey y Walton, 1989). Otros factores que intervienen en la regulación son las vitaminas, los minerales, los neurotransmisores y las hormonas (Stryer, 1995).

Calow (1985) explica la utilización del alimento ingerido de la siguiente manera: todos los organismos utilizan los nutrientes ( $A_{ing}$ ) como bloques de construcción en la síntesis de tejidos (producción,  $P$ ) y como combustible en los procesos metabólicos que controlan esta síntesis y otros trabajos físicoquímicos (metabolismo,  $M_T$ ). Parte de este material orgánico se pierde como productos residuales ( $Res$ ), de modo que:

$$A_{ing} = M_T + P + Res \quad (1.1)$$

El metabolismo total ( $M_T$ ) está representado por diferentes componentes: el metabolismo basal o estándar ( $M_{st}$ ) o también llamado *tasa metabólica de descanso* (Jobling, 1994), cuando el organismo se encuentra en reposo; el metabolismo de rutina ( $M_{rut}$ ), cuando el organismo realiza su actividad normal sin alimentarse y que contempla movimientos espontáneos de natación; el metabolismo de alimentación ( $M_{alim}$ ), asociado a los organismos que se están alimentando (algunas veces se conoce como *acción dinámica específica* o *efecto dinámico específico*); y el metabolismo de actividad ( $M_{act}$ ), que se reporta cuando los animales realizan movimientos naturales con un objetivo simple (*i.e.* natación en peces). Debemos tomar en cuenta que los requerimientos nutricionales del metabolismo basal y estándar están en función de la especie y la temperatura (Smith, 1989). Si se adicionan las demandas nutricionales al metabolismo de rutina, entonces:

$$M_T = M_{st} + aM_{rut} + bM_{alim-st} + cM_{act-st} \quad (1.2)$$

donde  $a$ ,  $b$  y  $c$  son constantes que expresan la fracción de tiempo que cada tipo de metabolismo utiliza.

La producción ( $P$ ) puede constar de un componente somático (crecimiento,  $P_{gr}$ ) y otro reproductivo ( $P_{rep}$ ). Finalmente los residuos ( $Res$ ) pueden ser descompuestos en heces ( $F$ ),

productos excretados tales como la urea y el amonio (*Exc*) y las secreciones extras como el mucus (*Muc*).

Con todos los términos descompuestos, Calow (1985) llegó a la siguiente expresión:

$$C = (M_{st} + aM_{rut} + bM_{alim-st} + cM_{act-st}) + (P_{gr} + P_{rep}) + (F + Exc + Muc) \quad (1.3)$$

Si analizamos esta ecuación, se establecen dos grandes procesos en los que la energía es utilizada. Una parte soportará el mantenimiento de las funciones corporales del pez (natación, mantenimiento de los sistemas osmótico y salino entre otras), y otra es dirigida a aquellos procesos involucrados en el crecimiento, producción de tejido y reproducción (Cowey y Walton, 1989). Por último, la energía que no es utilizada en alguno de los procesos anteriores es eliminada por distintas vías. Estos residuos son los que se busca reducir con dos objetivos específicos: mejorar la utilización de los alimentos aportados para que se desperdicie una cantidad menor, y reducir el impacto que puedan tener estos residuos sobre la calidad del medio de cultivo y en consecuencia, del ambiente al que llegarán estos residuos finalmente.

De acuerdo a lo explicado anteriormente, es clara la necesidad de incrementar los esfuerzos para mejorar las dietas utilizadas en la piscicultura. Para ello es necesario conocer algunos aspectos como la utilización de los nutrientes (principalmente proteínas, carbohidratos y lípidos) por determinadas especies y otros que afectan a la producción. A continuación se hablará de la demanda energética de los peces y posteriormente de la forma en que los nutrientes son utilizados por los peces.

### 1.2.1. Respiración y metabolismo.

Muchas de las vías metabólicas fueron inicialmente descritas a partir de estudios realizados en mamíferos, siendo poca la información al respecto disponible en relación a lo que ocurre en peces teleósteos. Las vías centrales del metabolismo son, en general, comunes a todos los vertebrados, aunque la regulación específica de las mismas puede diferir según el caso particular en función del hábitat en que vive cada organismo (Metón, 1996). El cálculo del metabolismo estándar ( $M_{st}$ ) es difícil en los estudios realizados con peces, debido a que es complicado medir la tasa metabólica a un organismo que no deja de nadar. Hay una relación para extrapolar la tasa metabólica a una velocidad cero de natación; y a pesar de la cuestionable validez de esta extrapolación, es un método muy utilizado para determinar el metabolismo estándar, al medir la "inactividad" de los peces en un respirómetro (Jobling, 1994). Hay que tomar en cuenta los efectos que puede tener el paso de alimento por el tracto digestivo, así como otros factores al medir la tasa metabólica. Generalmente, los peces grandes consumen más que los peces pequeños, pero los pequeños consumen más por unidad de peso; esta relación alométrica se expresa como:

$$M_M = aW^b \quad (1.4)$$

donde  $M_M$  es la tasa de consumo de oxígeno (en ml O<sub>2</sub>/pez.hora; energía respirada),  $W$  es el peso corporal (en gramos); y  $a$  y  $b$  son constantes. Hay cientos de estudios que hablan del efecto del tamaño corporal sobre el consumo de oxígeno en peces, y la mayoría estima un exponente del peso,  $b$ , entre 0.65 y 0.9; otros estudios recientes estiman adecuado un valor de 0.86 para algunas especies (Jobling, 1994). Esta disminución del consumo de O<sub>2</sub> con el incremento de la talla del pez se ha relacionado en parte a cambios ontogénicos en el tamaño relativo de diferentes órganos del cuerpo. Por ejemplo, conforme el pez crece se incrementa la actividad metabólica en tejidos como el intestino y



el hígado, pudiendo gradualmente representar una menor proporción del peso corporal; mientras que el tamaño relativo de la musculatura de natación tiende a incrementarse. Además de estos cambios ontogénicos, la evidencia sugiere que las intensidades metabólicas de los diferentes tejidos tienden a disminuir conforme el pez incrementa en talla o edad.

La variabilidad de los exponentes  $a$  y  $b$  sugiere que existen diferencias interespecíficas que dependen de las condiciones de medida (temperatura del agua, estación del año). Cuando medimos el metabolismo mínimo en peces, debemos asegurarnos de que los organismos se han aclimatado a la temperatura de trabajo. Si pasamos a un pez de una a otra temperatura diferente, pueden necesitarse días o incluso algunas semanas para que este se aclimate a las nuevas condiciones. Los organismos sufren una respuesta metabólica inmediatamente después de haberlos transferido (*respuesta aguda*), que difiere según el cambio realizado. Por ejemplo un pez que es llevado de 5°C a 25°C sufre un incremento abrupto de la tasa metabólica que después de algunas semanas disminuirá gradualmente hasta estabilizarse a un nuevo nivel (distinto al que tenía a 5°C). Un pez llevado a una temperatura menor sufrirá una disminución notable de la tasa metabólica que luego se incrementará gradualmente hasta el nuevo nivel. La temperatura presenta un efecto sobre el metabolismo, que se comporta de manera exponencial, como lo representa la ecuación:

$$M_M = k + e^{cT} \quad (1.5)$$

Este efectos de la temperatura sobre el metabolismo también puede ser descrito con la siguiente ecuación, sugerida por Jobling (1994):

$$\ln M_M = \ln k + cT \quad (1.6)$$

donde  $T$  es la temperatura y  $c$  el coeficiente de la temperatura. En resumen, las tasas metabólicas de los peces aclimatados a 15 y 25°C son mayores que las de los peces aclimatados a 5°C.

Otro dato importante es la representación energética de la respiración una vez que hemos obtenido la tasa metabólica.

### 1.2.2. Bioenergética y metabolismo intermediario.

Todos los seres vivos requieren un aporte constante de energía de sustento. Esta energía la obtienen a partir de los componentes suministrados por la dieta, en base a la capacidad de asimilación de sus ingredientes, o bien a partir de los almacenados en el propio organismo. Los peces se encuentran entre los animales que con mayor eficacia transforman los nutrientes de la dieta en crecimiento corporal, dado su bajo requerimiento en energía de mantenimiento (Smith, 1989).

Los procesos de obtención de energía ocurren por la oxidación de los nutrientes contenidos en los alimentos, gracias a una serie de reacciones de degradación de los glúcidos (glucólisis), lípidos (lipólisis) y proteínas (proteólisis), y que concluyen con la producción de CO<sub>2</sub>, agua y ATP, a través del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones, los cuales explicaremos más adelante y que se llevan a cabo dentro de la mitocondria (Lehninger, 1984; Stryer, 1995). En estos procesos participan también ciertas vitaminas y minerales. Tanto en los procesos que dan lugar a la producción de ATP como en los que implican su utilización posterior, la energía contenida en los sustratos orgánicos acaba en forma de calor.

Como hemos visto en el balance energético (ecuaciones 1.1 a 1.3), la energía producida se utiliza primordialmente para el mantenimiento del tono muscular, el transporte activo, la ampliación y transmisión de señales, la biosíntesis de macromoléculas (crecimiento), y la reproducción (Jobling, 1994); además de manejar las reacciones químicas que se llevan a cabo para el mantenimiento de los sistemas osmótico y salino, la retención o excreción de agua, movimiento de moléculas en contra de los gradientes de concentración y algunas otras reacciones que requieren energía y que hacen posible la vida (Cowey y Walton, 1989). Las demandas metabólicas de energía pueden variar en los organismos dependiendo del medio en el que viven, estado nutricional y reproductivo, la edad, el peso, el sexo, además de otros factores externos (Ackefors y Enell, 1994; Jobling, 1994; Boyce, 1999). Dice Priede (1985) que un pez que utiliza menos energía que otro de la misma especie para ventilar sus branquias puede utilizar la energía ahorrada para crecer más rápido y/o producir más huevos en la etapa de reproducción, es decir, que la energía se puede dirigir a lo largo del tiempo de acuerdo con las necesidades de la especie.

Todos los sistemas utilizados para representar y describir el balance energético de los animales han sido idénticos en su base, partiendo de la conservación de la energía (Lehninger, 1984). En la figura 1-3 podemos observar un flujo de energía idealizado para todas las especies de teleósteos. Cada una de las fracciones varían en magnitud dependiendo del estado de desarrollo del pez, de los hábitos alimenticios de las especies y de la habilidad de estos para digerir y utilizar esta energía (Love, 1980, citado por Pandian y Vivekanandan, 1985).

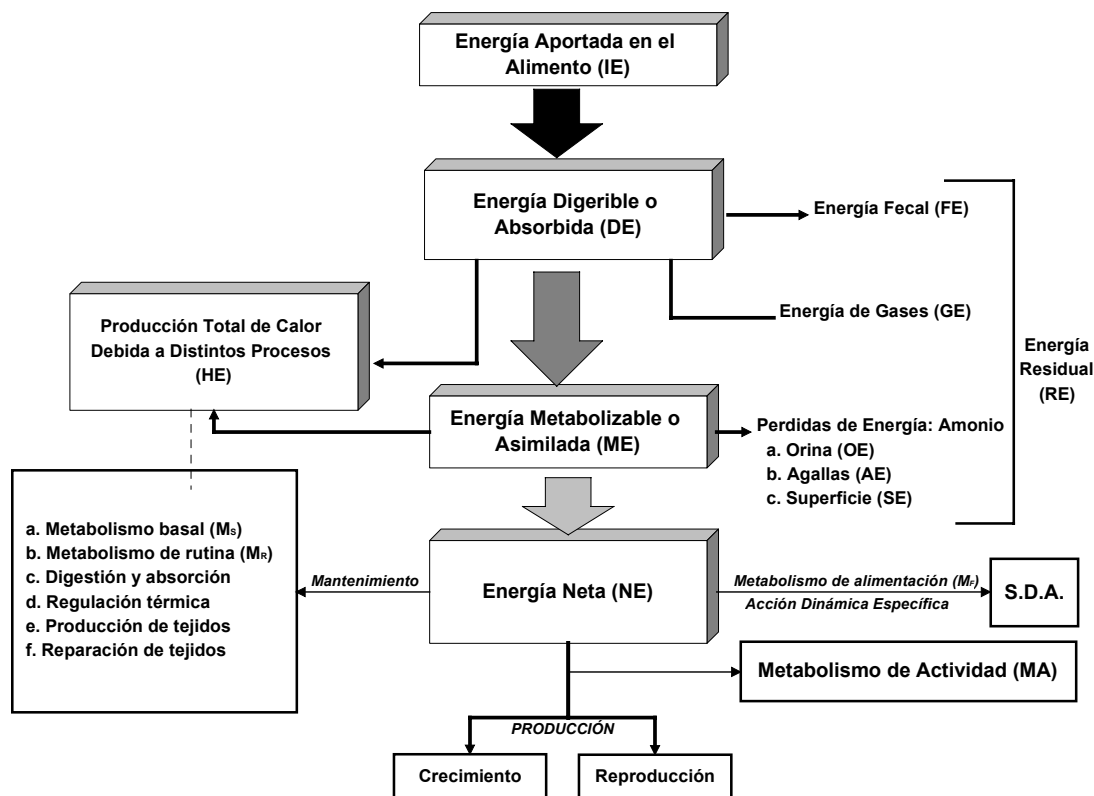


Figura 1-3. Flujo idealizado de energía a través de los peces (modificado de Smith, 1989).

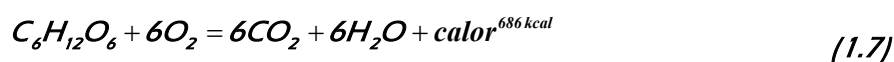
La energía requerida por unidad de gramos es mucho menor en los peces que en los animales terrestres; es decir, lo que aparece como mayores requerimientos de proteínas en los peces, realmente son menores requerimientos de energía (Smith, 1989).

En el organismo, además de las reacciones destinadas a la obtención de energía, existen procesos de síntesis y degradación de macromoléculas. Los procesos de síntesis consisten en la formación de moléculas complejas por unión y polimerización de unidades más elementales (Stryer, 1995). Así, estos procesos participan en la formación de glucógeno a partir de la glucosa, de triglicéridos a partir de ácidos grasos y glicerol, de proteínas a partir de los aminoácidos, y finalmente de ácidos nucleicos a partir de azúcares y moléculas nitrogenadas (Stryer, 1995).

En el caso de los peces, el ambiente marino engloba una mayoría de peces carnívoros como la dorada *Sparus aurata*. Aparentemente se establece una clara relación entre los componentes de su dieta natural, pobre en carbohidratos y rica en proteínas, y la limitada capacidad que presentan para metabolizar carbohidratos naturales (Cowey y Walton, 1989; Caseras, 2000). Por otro lado, los peces herbívoros y omnívoros utilizan bien la energía proveniente tanto de los carbohidratos como de las proteínas, por lo que sus dietas presentan un contenido más equilibrado entre estos nutrientes (Furuichi y Yone, 1981; en Metón, 1996). Lo anterior hace notoria la diferencia del metabolismo digestivo para cada nutriente entre peces carnívoros, omnívoros y herbívoros (Cowey y Walton, 1989). El aprovechamiento del alimento depende, en gran medida, tanto del contenido energético total del alimento ofrecido en relación a las demandas del organismo, como de la proporción en la que se encuentran los tres nutrientes calóricos, que son utilizados como combustible o sustrato en la respiración (Jobling, 1994). Cuando son catabolizados en presencia de oxígeno (metabolismo aeróbico) aportan dióxido de carbono y agua, habiendo una producción de calor (ecuación 1.7). Es importante determinar la cantidad de energía consumida que se pierde y por lo tanto no va a ser aprovechada en el crecimiento y metabolismo del pez [denominada fracción residual (**Res** o *diferencia*), ver ecuaciones 1.3 y 1.8].

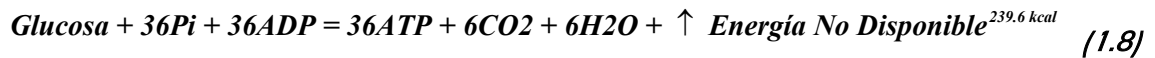
La energía liberada presenta distintas maneras de manifestarse y todas son transformadas cuantitativamente a calor, como el que se produce al realizar un trabajo o durante la oxidación de las moléculas orgánicas. La energía se encuentra almacenada en los enlaces químicos de los alimentos que toman los organismos, y es liberada cuando estos enlaces son rotos por reacciones de oxidación (Smith, 1989). En los peces se han encontrado las mismas vías oxidativas que en otros animales, aunque existen diferencias cuantitativas interesantes, dependiendo de la composición química (Jobling, 1994). La molécula del acetato se produce por la hidrólisis (u oxidación) de carbohidratos, grasas y aminoácidos. El acetato es el combustible para el ciclo del ácido cítrico, el cual es la vía principal para la síntesis del adenosin trifosfato (ATP). La hidrólisis del ATP es la fuente de energía a nivel celular (Smith, 1989). Gracias a la fosforilación oxidativa, en la cadena de transporte de electrones (CTE) se produce la mayor parte de la energía en forma de ATP, para las funciones del organismo (Lehninger, 1984; Stryer, 1995).

En la ecuación 1.6 se presenta una reacción típica de oxidación de materia orgánica con la consecuente liberación de energía. La oxidación de la glucosa; da como resultado dióxido de carbono y agua, liberando 686 kcal (2800 kJ o 16 kJ/gr, Jobling, 1994) como calor residual.

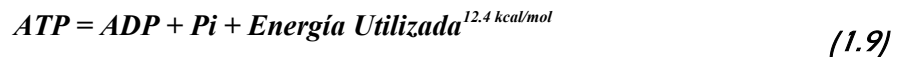


En los sistemas animales, parte de esta energía es atrapada en las moléculas de ATP y la restante es liberada en forma de calor. La oxidación completa de 1 mol de glucosa teóricamente debe producir 85 moles de ATP. Bajo condiciones fisiológicas se producen

de 36 a 38 moles de ATP, teniendo una eficiencia del 45% (Stryer, 1995; Smith, 1989; Jobling, 1994). Por otro lado, la formación de una molécula de ATP, a partir del ADP y fosfato inorgánico (*P*), supone la captura de aproximadamente 40kJ (Jobling, 1994).



A su vez, la hidrólisis del ATP a adenosin di-fosfato (ADP) y fosfato inorgánico (*P*) libera energía, la cual, a través de un acoplamiento químico, conduce la energía a las reacciones que lo requieren (Jobling, 1994). Se sabe que la cantidad de energía liberada por la hidrólisis del ATP bajo condiciones fisiológicas es de 12.4 kcal por mol (Lehninger, 1984).

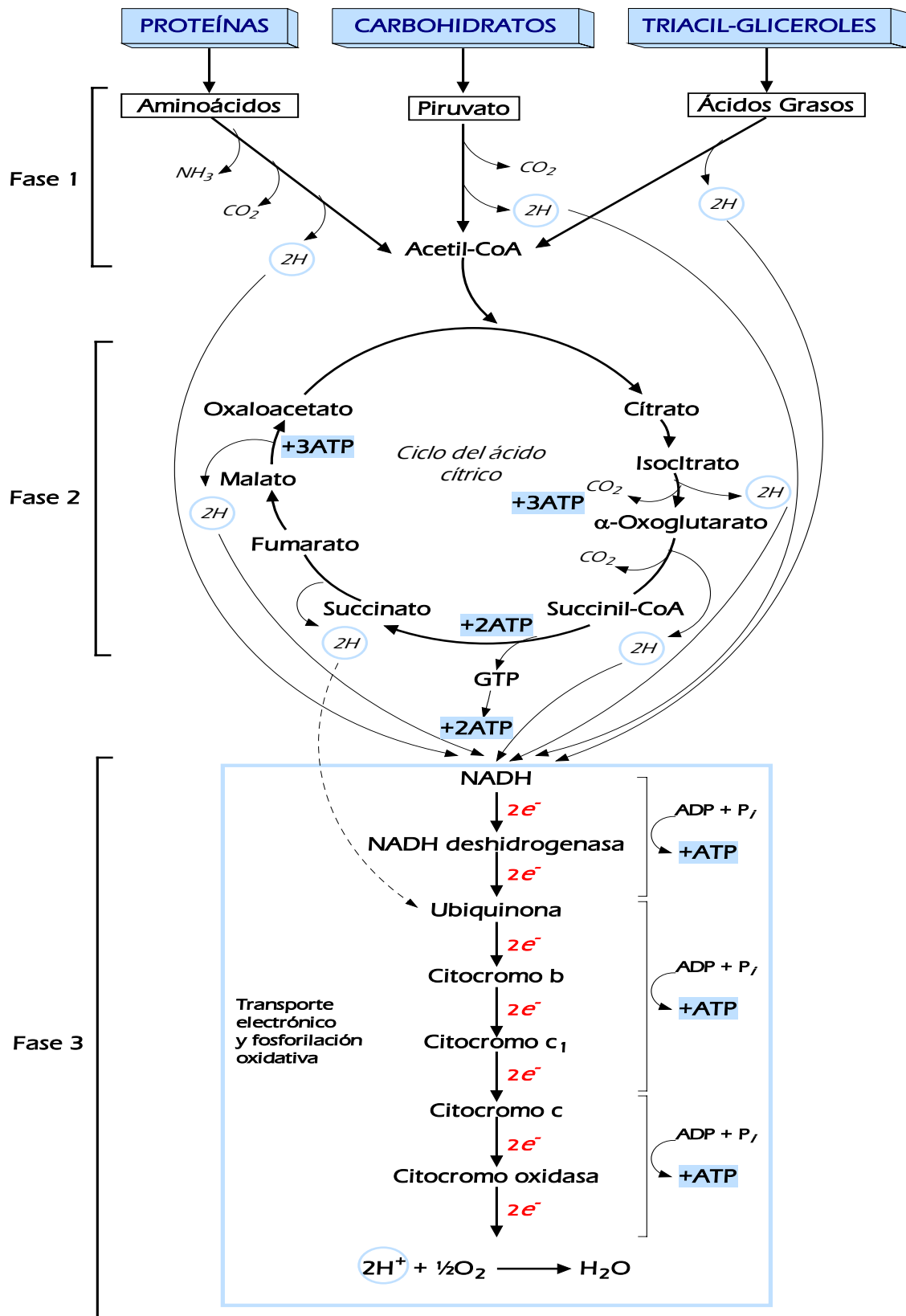


La energía restante aparece como calor, que en animales de sangre caliente es utilizada para mantener la temperatura del cuerpo. Los peces utilizan poco este calor y se pierde rápidamente en el agua circundante. Algunos peces como el atún, pueden utilizar este calor residual para elevar la temperatura del músculo rojo y el tracto digestivo, el primero para facilitar la natación y el segundo para acelerar los procesos digestivos (Smith, 1989).

Una de las fracciones descritas en el flujo de energía se destina a la producción (figura 1-3), ya sea como crecimiento somático o reproducción (gónadas, ecuación 1.3). Dicho crecimiento es generalmente fácil de medir al realizar un balance metabólico (Cowey y Walton, 1989). El crecimiento, como un incremento en la masa corporal, puede ser expresado en unidades de energía, representando el contenido energético del tejido en kcal/gr pez y su variación en el tiempo.

Es necesario un constante suplemento de energía a través de los alimentos para sostener la vida de todos los animales, pero cuando este escasea, la energía debe provenir de las reservas del cuerpo (Stryer, 1995; Cowey y Walton, 1989). En la figura 1-4 se representa la formación del ATP (Jobling, 1994), tanto como si este procede del alimento, como de sustratos o reservas corporales.

El contenido energético total del cuerpo puede calcularse a partir del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos del tejido homogenizado, pudiendo calcular también el contenido calórico de cada uno de los componentes del cuerpo (gónadas, hígado, riñón, entre otros) si estos son separados en el momento en que los organismos son sacrificados. En la tabla I.IV se presentan algunos valores energéticos calculados por varios autores para los tres principales componentes orgánicos en los peces. Jobling (1994) menciona que los lípidos de origen marino (aceites de pescado) suelen tener un contenido energético ligeramente menor que los de animales terrestres.



**Figura 1-4.** Fases de la respiración celular. 1: movilización del acetil-CoA procedente de la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos. 2: Ciclo de Krebs. 3: Cadena de transporte de electrones (abreviada) y fosforilación oxidativa. Modificado de [Lehninger \(1984\)](#).

**Tabla I.IV.** Contenido energético de los principales constituyentes corporales en algunas especies de peces (kcal/gr<sup>1</sup>).

MUESTRA	MATERIAL ORGÁNICO			FUENTE
	PROTEÍNAS	CARBOHIDRATOS	LÍPIDOS	
<b>Anguila</b> <i>Anguilla rostrata</i>	4.00	4.00	9.00	Klieber (1975) <sup>2</sup>
<b>Mamíferos y Salmón</b> <i>Oncorhynchus nerka</i>	4.80	4.10	9.45	Brett y Groves (1979) <sup>3</sup>
<b>Dorada</b> <i>Sparus aurata</i>	5.76	4.08	9.36	Fernández y col. (1999)

<sup>1</sup>Equivalencia: 0.24 kcal/gr = 1 kJ/gr. (Steffens, 1987)

<sup>2</sup>Citado en Gallagher y Matthews (1987)

<sup>3</sup>Citado en Weatherley y Gill (1987)

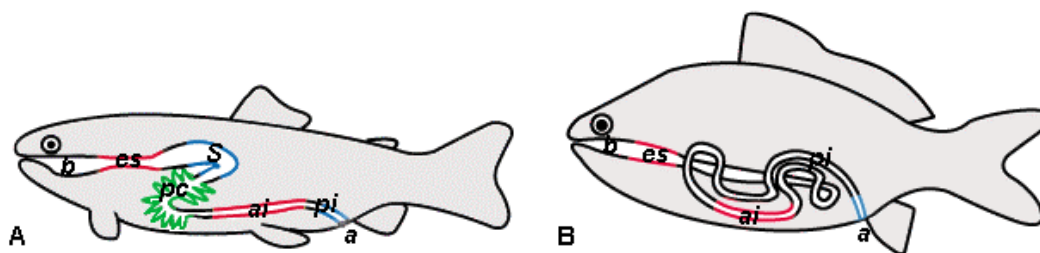
La energía comestible se obtiene de muy variadas formas y de diversas fuentes, encontrando que la composición de las dietas de los peces en el medio natural, va desde otras especies de peces hasta algas y macrófitos acuáticos; las cuales difieren en composición bioquímica, y por lo tanto, en la cantidad necesaria que debe ser ingerida para tomar una determinada cantidad de cada nutriente (Jobling, 1994). Los peces tienen que adaptarse para utilizar la energía de los diferentes tipos de alimento. De esta manera los peces detritívoros, como los bagres y lisas (Pandian y Vivekanandan, 1985), tienen que procesar 200 gramos o más de alimento para obtener 1 gramo de proteína, mientras que en peces carnívoros, el consumo de 6-7 gramos de alimento es suficiente para obtener esta misma cantidad de proteínas.

Un detallado análisis de Love en 1980 (en Pandian y Vivekanandan, 1985) con 600 especies de peces, muestra que el 85% de especies de teleósteos son carnívoras, 6% herbívoras, 4% omnívoras, 3% detritívoras y 2% carroñeros y parásitos, lo que muestra la importancia que tienen las proteínas en las dietas para peces, pues son la principal fuente de energía en los organismos carnívoros, que conforman el grupo más grande de peces por hábito alimenticio (Pandian y Vivekanandan, 1985; Cowey y Walton, 1989).

### 1.2.3. Digestión del alimento en los peces.

#### *Composición y funcionamiento del sistema digestivo de los peces.*

Antes de seguir con la utilización de los nutrientes, es necesario comprender de forma general la morfología y fisiología del aparato digestivo de los peces, para situar algunos procesos de los que hablaremos más adelante. Se sabe que el tracto digestivo de los peces es parecido al de los mamíferos, aunque con una mayor diversidad anatómica (Smith, 1989). La composición, de forma general, del tracto digestivo en los peces teleósteos comienza en la cavidad bucal, después sigue el esófago, el estómago (en algunos peces no se presenta), en algunos peces se presentan varios ciegos pilóricos (*caeca pilórica*). Después del estómago, sigue el intestino y termina en el ano (ver figura 1-5). Aparte del tracto digestivo, juegan también un papel muy importante el hígado y el páncreas, debido a que es en estos órganos donde se producen las enzimas y fluidos digestivos necesarios para llevar a cabo la hidrólisis del alimento (Smith, 1989; Jobling, 1994).



**Figura 1-5.** Tracto digestivo de un pez carnívoro (A) y un pez omnívoro (B). Cavidad bucal (b), esófago (es), estómago (S), ciegos pilóricos (pc), intestino anterior (ai), intestino posterior (pi) y ano (a). Tomado y modificado de: AMC (1999).

El alimento entra al sistema digestivo por la boca (ingestión), en donde se lleva a cabo la trituración del mismo. La eficiencia de la rotura celular es muy importante debido a que con ello se incrementa el área sobre la que actúan las enzimas. Una rotura adecuada depende de la forma de los dientes y su posición. En los carnívoros los dientes frontales tienen solo la función de tomar a la presa; de manera que los dientes con verdadera función trituradora se encuentran en la parte posterior de la boca y, en algunos peces omnívoros y herbívoros como la carpa, también en la faringe (Pandian y Vivekanandan, 1985; Smith, 1989).

Una vez que el alimento está triturado, pasa al esófago, el cual comunica la boca con el estómago o el intestino, no ocurriendo la absorción del alimento en el esófago. En el estómago, la pared produce ácido clorhídrico y enzimas digestivas (pepsina, entre otras), lo cual sirve para ablandar los restos del alimento e iniciar la hidrólisis del mismo en piezas suficientemente pequeñas para ser absorbidas. El bajo pH del estómago (entre 2.4 y 4.25) activa a los precursores para producir proteasas. Las proteasas convierten el tripsinógeno en tripsina, la cual activa otras enzimas específicas para la hidrólisis de las proteínas, lípidos, carbohidratos y quitina (Smith, 1989). En los peces sin estómago, las enzimas digestivas son segregadas en la parte anterior del intestino, pero no se produce ácido clorhídrico como en el caso de los peces con estómago.

Después del estómago aparecen los ciegos pilóricos en algunas especies, los cuales parecen tener la función de incrementar el área de absorción del intestino, respecto a las grasas y carbohidratos. Adyacente al estómago, se encuentra el páncreas, el cual puede ser muy notorio o difuso. El páncreas produce la insulina y las enzimas necesarias para la hidrólisis de los alimentos (tripsina, quimotripsina, colagenasa, elastasa, carboxipeptidasa, carboxilesterasa y lipasas, entre otras).

El hígado y la vesícula biliar juegan un papel muy importante en la digestión. El hígado asimila los productos de la digestión y ayuda a los procesos digestivos con la producción y parcial reciclado de bilis, la cual es almacenada en la vesícula biliar y excretada al intestino a través del conducto biliar. La bilis tiene un gran número de funciones: (a) ayuda a la emulsificación y absorción de los lípidos, (b) neutraliza el ácido clorhídrico del estómago, y (c) garantiza que algunas toxinas absorbidas vuelvan al intestino para ser excretadas. La bilis es una mezcla de sustancias provenientes de lípidos como el colesterol y otros esteroides. Contiene también otros productos de la descomposición de la hemoglobina, principalmente la bilirrubina y la biliverdina.

En el intestino se lleva a cabo la absorción de los nutrientes a través de sus paredes, pasando al torrente sanguíneo. La emulsificación ayuda a mantener una gran superficie para la actuación de las lipasas, las cuales transforman las grasas a glicerol, ácidos grasos y glicéridos. A lo largo del intestino se van perdiendo las funciones de digestión y absorción,

se mantiene el pH cerca de la neutralidad y se incrementa la producción de mucus. Los movimientos del intestino y la forma de sus pliegues provocan además una compactación de los residuos de la dieta que no han sido absorbidos, además de incrementar la superficie de contacto para absorber más nutrientes (Smith, 1989).

Parte del alimento ingerido es digerido y absorbido, y otra parte no. La parte de alimento no absorbido se libera al medio en forma de heces, entrando en el compartimiento de la materia orgánica en descomposición (Jobling, 1994). El aprovechamiento del alimento por los peces determina la calidad de las aguas residuales en las piscifactorías. El alimento no ingerido, junto con las heces y compuestos disueltos excretados por los peces son los principales componentes de los efluentes de esta actividad.

### ***Algunos aspectos del sistema digestivo de los peces.***

De acuerdo con los hábitos alimenticios de los peces y con la finalidad de aprovechar mejor el alimento ingerido, el tracto digestivo presenta algunas modificaciones. Por ejemplo, el tracto digestivo de los peces herbívoros es más largo que el de los peces carnívoros, alcanzando entre 7 y 20 veces la longitud del cuerpo, mientras en los carnívoros solo alcanza entre 2-5 veces la longitud del cuerpo. Los peces omnívoros presentan un tracto digestivo de una longitud intermedia. Estas adaptaciones tienen como objetivo principal hacer más eficiente la digestión y absorción de nutrientes en el tracto digestivo (Pandian y Vivekanandan, 1985; Smith, 1989).

Por su parte, los peces carnívoros presentan pliegues en las paredes del tracto, lo que les permite incrementar el área de absorción de los nutrientes y reducir la velocidad del paso del alimento a través del tracto digestivo (Smith, 1989).

Los peces herbívoros y detritívoros encuentran algunos obstáculos en la digestión de su alimento debido a:

- (a) las fibras como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina presentes en su alimento no son fácilmente digeribles,
- (b) las plantas contienen algunos inhibidores que anulan la actividad enzimática, y
- (c) el material inorgánico de los detritus no ofrece valor energético y, en cambio, reducen la eficiencia de los procesos digestivos.

Por todo lo anterior, los peces han desarrollado adaptaciones de tipo estructural y secretor. La presencia de pliegues en forma de espiral en el estómago incrementa el área de actividad enzimática. Además, numerosas glándulas mucosas mejoran la actividad digestiva en algunos peces. Algunos herbívoros como la *Tilapia rendalli* presentan fuertes dientes faríngeos que les permite mejorar la trituración de la pared celular de las plantas, liberando el contenido citoplasmático con mayor facilidad. En ciertas especies como la *Tilapia mossambica* el pH de los fluidos estomacales se encuentra por debajo de 1.0 durante el proceso, con la finalidad de mejorar su eficiencia. También, al presentar los herbívoros un tracto digestivo más largo que la longitud de su cuerpo incrementan tanto el área de absorción como el tiempo de residencia de los nutrientes en el tracto, para ser absorbidos (Pandian y Vivekanandan, 1985). Otro elemento que ayuda para aumentar la eficiencia de absorción en los herbívoros es la presencia de microorganismos y bacterias en el alimento y/o el propio tracto intestinal (*i.e.* en los ciegos pilóricos), que con su muerte no solo agregan valor nutricional al alimento, sino que llevan a la liberación de su citoplasma en el tracto de los peces herbívoros y detritívoros, mejorando la tasa de digestión. Los ciegos pilóricos parecen tener la función de incrementar el tiempo de



residencia del alimento en el tracto, además de contener flora bacteriana que incrementa la digestión del alimento (Smith, 1989).

En el caso de la dorada, el esófago es amplio y corto; el sitio donde termina no es muy obvio debido a que no se aprecia ningún cambio morfológico. El estómago tiene forma de sifón, encontrando en su parte superior una constricción que determina el final del mismo, dando paso al inicio del intestino anterior, el cual incluye 4 ciegos pilóricos; el intestino presenta dos dobleces sobre sí mismo. Finalmente, la parte anterior del intestino sufre una reducción del diámetro y, a través de una válvula, una constricción da paso al intestino posterior o recto (Elbal y Agulleiro, 1986). La forma del tracto digestivo en la dorada cumple con la generalidad de los peces carnívoros, en los que el límite entre algunas de sus partes no es muy aparente, como en el caso del intestino anterior y posterior (observación personal).

#### 1.2.4. Utilización de las proteínas en los peces.

El peso fresco de la mayoría de los peces usualmente contiene un 60-80% de agua, 12-20% de proteínas, 3-20% de lípidos y 1.9-3.5% de cenizas. Los carbohidratos, lípidos y proteínas son los mayores componentes en peso seco del alimento ingerido, y cualquiera de ellos puede ser utilizado como combustible o, a excepción de las proteínas, ser almacenado en el cuerpo para utilizarlo cuando sea requerido. Cuando los lípidos y carbohidratos son utilizados como sustratos respiratorios en el metabolismo aeróbico, son completamente oxidados a dióxido de carbono y agua (figura 1-4), pero cuando se utilizan las proteínas como fuentes de energía solo las cadenas de carbono de los aminoácidos constituyentes entran en el ciclo de producción de energía (Cowey y Walton, 1989; Stryer, 1995).

La función principal de las proteínas es la de aportar los aminoácidos requeridos por el pez para el mantenimiento y crecimiento o producción. El valor nutricional de las proteínas está directamente relacionado con la composición de aminoácidos de la proteína. Es así como una proteína bien balanceada de aminoácidos presenta un mayor valor nutricional. El valor nutricional de las proteínas no suele variar demasiado entre especies de peces, es decir, que el espectro de los aminoácidos necesarios para los peces, no suele variar (Cowey y Walton, 1989; Jobling, 1994).

La utilización de las proteínas se define como la proporción de proteínas ingeridas que es retenida por el organismo en forma de biomasa corporal, y se calcula como se describe en el apartado de *Materiales y Métodos (NPU, ecuaciones 4.5 y 4.6)*. Las eficiencias globales en la retención de proteínas pueden ser más bajas en los peces que en los mamíferos (cerdos, vacas y el hombre), lo cual refleja la utilización de las mismas (ver tabla I.V; Cho y Kaushik, 1985). Por ejemplo, el nivel de energía proteica con respecto a la energía total para conseguir una máxima utilización es alrededor de 1:2 para *Salmo gairdneri* (Lee y Putnam, 1973; en Pandian y Vivekanandan, 1985); mientras que para los rumiantes es alrededor de 1:10 (Williamson y Payne, 1980; en Pandian y Vivekanandan, 1985)

Debido a que el gasto energético para eliminar el exceso de nitrógeno es muy alto en los mamíferos, al ser alimentados con dietas de alto contenido proteico, el crecimiento se retarda. En contraste, los peces en el medio acuático pueden excretar y eliminar de forma constante entre el 60 y 80% de su nitrógeno residual en forma de amonio a través de las branquias, sin efecto sobre el crecimiento (varios autores en Pandian y Vivekanandan, 1985). Parte de las pérdidas de nitrógeno se realizan a través de productos residuales como las heces, que incluyen no solo los restos de alimento no ingerido (entre el 5-15%), sino también en forma de células epiteliales que son regeneradas por el intestino; el mucus, las enzimas digestivas y las bacterias (Soofiani y Hawkins, 1985).

**Tabla I.V.** Comparación del aprovechamiento de las proteínas en peces y mamíferos.

Especies	Peso Corporal	Retención Proteica (NPU)
<b>MAMÍFEROS</b>		
Ratas <sup>1</sup>	–	14.19
Cerdos <sup>1</sup>	42.0 kg	54.34
Hombre <sup>2a</sup>	62.5 kg	70-95
Hombre <sup>2b</sup>	62.5 kg	85-100
Vacas <sup>3</sup>	500-600 kg	70-91
<b>PECES</b>		
Carpa común <sup>4</sup>	Adulto	14.6-38.0
Trucha arcoiris <sup>4</sup>	Adulto	35.0-48.0
Dorada <sup>5</sup>	5.3 gr	26.29
Dorada <sup>6</sup>	50 gr	34.40-36.80

<sup>1</sup> McDonald y col. (1988).

<sup>2</sup> Linder (1988). *a/* para proteínas de origen vegetal y *b/* de origen animal.

<sup>3</sup> Owens y Zinn en: Church (1988). Dato para vacas lactantes.

<sup>4</sup> Distintos autores en: Hopher (1988). datos para *a/* carpa común, y *b/* trucha arcoiris, dependiendo de los niveles de proteínas, lípidos y carbohidratos en las dietas.

<sup>5</sup> Vergara y col. (1996b). Dieta con 52 % proteínas y 9 % lípidos.

<sup>6</sup> Fernández y col. (1999). Dieta con 52 % proteínas y 9 % lípidos.

Las demandas energéticas de los peces difieren de las de los animales homeotermos terrestres, y estas diferencias afectan a los requerimientos y transformación de las proteínas, pues:

- (a) en comparación con los mamíferos, los peces no gastan energía en el mantenimiento de la temperatura corporal,
- (b) la locomoción y el mantenimiento de la posición en el agua requiere menos energía que la que se necesita sobre el suelo, y
- (c) la proteína actúa como nutriente y como fuente de energía, por lo que los menores requerimientos energéticos en los peces (al ser ectotermos) no solo permiten reducir la entrada de energía, sino que también incrementan la proporción de energía proteica disponible con respecto a la energía total.

En los peces es importante que las dietas tengan un adecuado nivel proteico para sostener buenas tasas de crecimiento. En algunos estudios realizados con peces se ha encontrado un crecimiento adecuado cuando alrededor de la mitad de la energía es aportada por proteínas, variando ligeramente de acuerdo a sus hábitos alimenticios. Para los salmónidos (lubina *Morone saxatilis*), pércidos (pargo japonés *Pagrus major*) y peces planos (lenguado *Pleuronectes platessa*) se estima que el nivel óptimo de proteínas en la dieta para el crecimiento es entre 40 y 55%. En otros peces como los ciprínidos (carpas), tilapias y algunos ictalúridos (bagres) se obtienen buenas tasas de crecimiento con dietas formuladas con niveles de proteínas entre 30-40% (Jobling, 1994). En la tabla I.VI se presentan los requerimientos proteicos para algunas especies de peces, donde la diferencia de requerimientos entre los peces carnívoros y el resto de los grupos es clara, los peces omnívoros requieren niveles menores de las mismas, mientras que los detritívoros parecen requerir niveles mayores.

Por otra parte, los estudios realizados con la dorada *Sparus aurata* arrojan resultados muy variables, reportando que un nivel de proteínas dietarias entre el 40 y el 50% (tabla I.VI), proporcionan un buen crecimiento (Sabaut y Luquet, 1973; Vergara *et al.* 1996b; Kaushik, 1997). Para alevines de dorada (1.8-3.3 gramos), Vergara y colaboradores. (1996a), reportan que un nivel de proteínas del 55% en la dieta es adecuado para asegurar un buen crecimiento y una alta eficiencia de utilización de las proteínas.

**Tabla I.VI.** Requerimientos proteicos de algunos peces en porcentaje del peso seco corporal (PT).

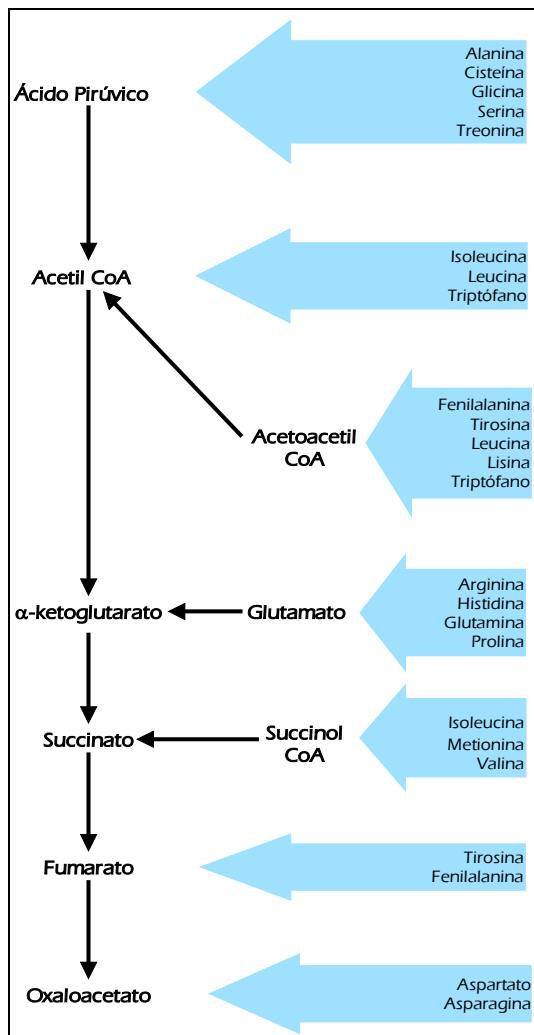
ESPECIES	Fuente de Proteínas	PROTEÍNAS	REFERENCIA
<b>Carnívoros</b>			
Dorada <i>Sparus aurata</i>	Caseína, concentrado proteico y aminoácidos	40	Sabaut y Luquet (1973)
Dorada <i>Sparus aurata</i>	Harina de sardina	55	Vergara y col. (1996a)
Dorada <i>Sparus aurata</i>	Harina de pescado y suplemento de lípidos	46	Vergara y col. (1996b)
Pargo Japonés o del Mar Rojo <i>Chrysophrys major</i>	Caseína	55	Yone (1976)**
Lenguado <i>Pleuronectes platessa</i>	Músculo de bacalao	50	Cowey y col. (1972) '***
Anguila <i>Anguilla japonica</i>	Caseína y aminoácidos	44.5	Nose y Arai (1972) '***
Salmón Chinook <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Caseína, gelatina y aminoácidos	48	De Long y col. (1958) '***
Trucha Arcoiris <i>Salmo gairdneri</i>	Harina de pescado Caseína y gelatina	43 40	Satia (1974) '*** Zeitoun y col. (1974) *
Salmón del Atlántico <i>Salmo salar</i>	—	40	Rumsey y Ketola (1975) *
<b>Omnívoros</b>			
Bagre <i>Ictalurus punctatus</i>	Proteína de huevo	32-36	Garling y Wilson (1976)**
Carpa Común <i>Cyprinus carpio</i>	Caseína	38	Ogino y Saito (1970) *
Tilapia <i>Tilapia aurea</i>	Caseína y albúmina de huevo	36	Winfree y Stickney (1981)**
Tilapia <i>Tilapia nilotica</i>	Caseína	30	Wang y col. (1985)**
<b>Herbívoros</b>			
Carpa de Hierba <i>Ctenopharyngodon idella</i>	Caseína	41-43	Dabrowski (1977)**
<b>Detritívoros</b>			
Lisa <i>Mugil auratus</i>	—	70	Vallet y col. (1970) *
Lisa <i>Mugil capito</i>	—	70	Vallet y col. (1970) *

\* Citado en Pandian y Vivekanandan (1985).

\*\* Citado en Wilson (1989).

Cuando los carbohidratos o lípidos requeridos no son aportados en el alimento, se catabolizan más proteínas para síntesis de ATP y de glucosa (ciclo de Krebs), siendo desviadas del objetivo principal de estas, que es la de generar y reemplazar proteínas de los tejidos (Smith, 1989; Jobling, 1994; Panserat *et al.*, 2000). En contraste a lo que ocurre con los ácidos grasos y la glucosa, cuando la cantidad de proteínas ofrecidas en el alimento es superior a las demandas metabólicas para sintetizar proteínas y otras biomoléculas, las proteínas no pueden almacenarse pero tampoco pueden excretarse. En

consecuencia, las proteínas excedentes se utilizan como combustible metabólico (Stryer, 1995). Las proteínas están compuestas por 20 diferentes aminoácidos. Las vías catabólicas de estos aminoácidos pueden ser largas y complejas, pero finalmente convergen en unas pocas vías terminales que llevan al ciclo de Krebs. Los esqueletos de algunos aminoácidos son convertidos a acetil coenzima A (acetil-CoA) antes de entrar en el ciclo (detalles en la figura 1-6) o bien son convertidos a intermediarios del propio ciclo. La conversión de diez de estos aminoácidos ocurre vía piruvato o acetoacetil-CoA como intermediario. Cinco aminoácidos (arginina, histidina, ácido glutámico, glutamina y prolina) son transformados a  $\alpha$ -cetoglutarato, tres (metionina, isoleucina y valina) a succinil-CoA, y la asparagina a oxaloacetato para entrar en el ciclo de Krebs. Dos de los aminoácidos, la fenilalanina y la tirosina, son degradados de tal manera que una porción de los esqueletos carbonados entran en el ciclo de Krebs como acetil-CoA y el otro como fumarato (Lehninger, 1984; Jobling, 1994). Los procesos por los que los aminoácidos son catabolizados y aquellos que controlan el destino de los mismos (*transaminación* y *desaminación*) se explicarán más adelante en el apartado relacionado a la excreción de nitrógeno (apartado 1.3) y se representan en la figura 1-9.



**Figura 1-6.** Puntos de entrada de diferentes aminoácidos en el ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs). Tomado de Jobling (1994).

Hay que tener en cuenta algunos aspectos que afectan a la producción cuando se desarrollan nuevas dietas para peces, ya que el objetivo principal es alcanzar buenas tasas

de crecimiento y un buen aprovechamiento de dichas dietas. Sabemos, por ejemplo, que los peces carnívoros no aprovechan los hidratos de carbono de la misma manera que los peces herbívoros, por lo que se investiga activamente para mejorar la utilización de estos carbohidratos (Brauge *et al.*, 1994; García-Alcázar *et al.*, 1994; Ringø y Olsen, 1994). El aprovechamiento del alimento es afectado por diversos factores como:

- (a) algunas especies de peces carnívoros presentan cierta capacidad para la utilización de los carbohidratos, como es el caso de la dorada (Bonamusa *et al.*, 1992; Metón *et al.*, 2000; Pansrerat *et al.*, 2000),
- (b) tipo de carbohidratos (los peces utilizan mejor el almidón que algunos disacáridos y la glucosa (Shiau y Chuang, 1995; Shiau, 1997),
- (c) tratamiento previo de los carbohidratos (el almidón precocido es utilizado mejor que el almidón crudo, Jobling, 1994),
- (d) proporción de los carbohidratos en el pienso (composición de las dietas, Fernández *et al.*, 1998), y
- (e) condiciones de cultivo, entre otros (la temperatura afecta directamente el metabolismo de los carbohidratos, Brauge *et al.*, 1995).

Hay que tener en cuenta el cambio en los requerimientos energéticos del pez durante las diferentes etapas de su desarrollo; pues se ha encontrado por ejemplo que un pez pequeño consume más energía por unidad de masa que un pez grande (Rychly, 1980). Se conoce también que los peces de mayor talla utilizan mejor los carbohidratos aportados por la dieta que los peces pequeños (Austreng *et al.*, 1977). Bondi (1987) dice que la retención de proteínas depende también del valor biológico para cada fuente y tipo de proteínas, lo cual depende en buena parte del perfil de aminoácidos que las componen, lo cual fue explicaremos en el apartado siguiente. Como los requerimientos de proteínas se expresan normalmente en términos de un porcentaje fijo del peso de la dieta o como la proporción de energía proteica respecto a la energía total de la dieta (calculada a partir de los valores de energía digerible o metabolizable; lo anterior no quiere decir que un pez más pequeño necesite diferente proporción de energía en la dieta (Tacon y Cowey, 1985).

### ***Perfil de aminoácidos.***

Los peces tienen la capacidad de sintetizar y transformar algunos aminoácidos en otros que necesitan para mantener el óptimo crecimiento, siendo estos los aminoácidos no esenciales; aquellos que no pueden sintetizar o no lo hacen en cantidad suficiente, son llamados esenciales (indispensables). Los aminoácidos esenciales contribuyen a la estructura de las proteínas en los tejidos y el crecimiento de los organismos. Experimentos realizados en algunas especies de peces sobre el crecimiento, utilizando dietas deficientes en distintos aminoácidos, y otros llevados a cabo con aminoácidos marcados, han llevado a la conclusión de que hay 10 aminoácidos esenciales para los peces (Jobling, 1994), aunque algunas especies pueden necesitar alguno distinto, como lo es la cisteína para la dorada (Kaushik, 1997; ver la tabla I.VII).

**Tabla I.VII.** Aminoácidos esenciales requeridos por algunas especies de peces, según su tipo. Valores presentados sobre el porcentaje de la proteína en la dieta. Modificado de Jobling (1994).

AMINOÁCIDOS	<i>Bagre</i> <i>I. punctatus</i>	<i>Carpa</i> <i>C. carpio</i>	<i>Tilapia</i> <i>O. niloticus</i>	Salmón <i>O. tshawytscha</i>	Dorada* <i>Sparus aurata</i>
Treonina <sup>1</sup>	2.0	3.8	3.8	2.2	–
Valina <sup>1</sup>	3.0	3.5	2.8	3.2	–
Leucina <sup>1</sup>	3.5	4.1	3.4	3.9	–
Isoleucina <sup>1</sup>	2.6	2.5	3.1	2.2	–
Fenilalanina <sup>2</sup>	5.0	5.7	5.5	5.1	–
Metionina <sup>3</sup>	2.3	1.8	2.7	4.0	–
Cisteína <sup>3</sup>	–	–	–	–	Met+Cis 4.0
Triptófano <sup>4</sup>	0.5	0.8	1.0	0.5	0.6
Arginina <sup>5</sup>	4.3	4.3	4.2	6.0	<6.0
Histidina <sup>5</sup>	1.5	1.8	1.7	1.8	–
Lisina <sup>5</sup>	5.0	5.8	5.1	5.0	5.0
<b>Proteínas</b> <b>(% de la Dieta)</b>	30.7	34.1	33.3	33.9	–

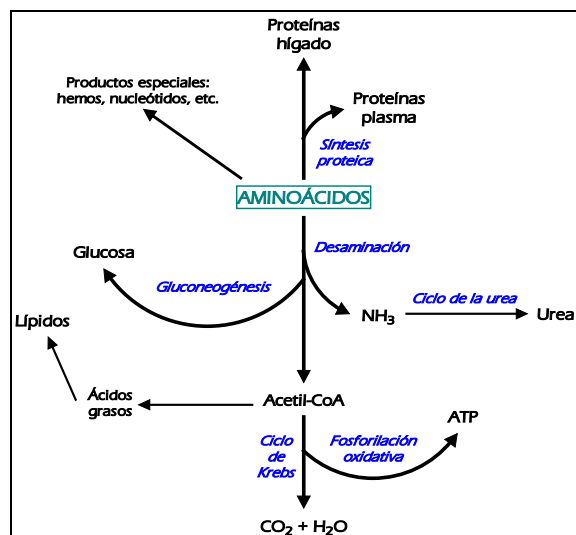
Los aminoácidos marcados del 1 al 5, en base a el tipo de cadena pertenecen a las series alifática, aromática, sulfatadas, heterocíclicas y básicas, respectivamente.

\*Kaushik (1997).

Existen dos motivos por los cuales los aminoácidos aportados por la dieta son desviados de su objetivo principal que es la síntesis de nuevos aminoácidos y de proteínas para el crecimiento, y son utilizadas como sustrato para la producción de energía (Stryer, 1995):

- ☛ cuando los carbohidratos necesarios para el suplemento de energía no son aportados suficientemente por la dieta, y
- ☛ cuando los aminoácidos aportados por la misma sobrepasan los requerimientos metabólicos para sintetizar proteínas y otros compuestos orgánicos.

El catabolismo de los aminoácidos ocurre en dos fases principales, el primero es la remoción del grupo  $\alpha$ -amino y transferencia a un segundo compuesto. El esqueleto carbonado resultante da lugar a intermediarios metabólicos importantes como el acetyl-CoA, acetacetyl-CoA, y piruvato, los cuales entran a alguno de las vías metabólicas (ciclo de Krebs o gluconeogénesis; ver figuras 1-6 y 1-7) (Lehninger, 1984; Jobling, 1994; Stryer, 1995). La segunda fase es la desaminación del segundo compuesto que ha recibido el grupo  $\alpha$ -amino, este puede utilizarse en algunas reacciones sintéticas, aunque principalmente es excretado como amonio (Covey y Walton, 1989). Este segundo compuesto puede entonces volver a captar otro grupo  $\alpha$ -amino.



**Figura 1-7.** Rutas metabólicas de los aminoácidos en el hígado. Tomado de Lehninger (1984).

### 1.2.5. Utilización de los carbohidratos.

Los hidratos de carbono o glúcidos son químicamente aldehídos o cetonas polihidroxilados o productos derivados de ellos. Los carbohidratos con importancia nutritiva son varios monosacáridos (como la glucosa, la fructosa y la galactosa) disacáridos (como la sacarosa y la lactosa) y polisacáridos (como el glucógeno y el almidón) los cuales desempeñan un papel fundamentalmente energético. También intervienen en la síntesis de nuevas sustancias como la heparina y la ribosa (Stryer, 1995).

En el caso de los peces, la utilización de los glúcidos requiere procesos digestivos en los que los carbohidratos complejos (almidones) son transformados en el tracto digestivo en disacáridos por medio de diversas amilasas. Estos, a su vez, se transforman en monosacáridos por medio de disacaridasas específicas. La principal enzima que degrada los carbohidratos es la  $\alpha$ -amilasa, la cual es secretada en el jugo pancreático y actúa en el lumen del intestino. Otro factor que ayuda en la degradación de los carbohidratos es el medio ácido del estómago. Los monosacáridos pasan a la sangre por absorción a través de las células mucosas del intestino (Bondi, 1987; Linder, 1988). La sangre transporta los monosacáridos hacia los tejidos del hígado y los músculos.

En los tejidos tienen lugar diferentes reacciones oxidativas para obtener energía por medio del ciclo de Krebs o de conversión en otros nutrientes. Además de la dieta, fundamentalmente la insulina controla el metabolismo de los glúcidos, aunque otras hormonas como los glucocorticoides, la tiroxina, el glucagón, las catecolaminas y la somatotropina también participan en su regulación, a través de los cambios en los procesos de glucólisis/gluconeogénesis (Stryer, 1995).

A partir de carbohidratos como el glucógeno, la glucosa, lactato y piruvato se desarrollan los procesos metabólicos más importantes, de los que se deriva la formación del resto de carbohidratos necesarios para el desarrollo del pez (ver figura 1-8). Se ha visto que los peces alimentados con dosis bajas de carbohidratos y exceso de proteínas, echan mano de determinados aminoácidos (alanina, serina, fenilalanina y tirosina) para efectuar la gluconeogénesis; la cual se lleva a cabo en los riñones y en el hígado (Black *et al.*, 1961; en Steffens, 1987; Metón *et al.*, 1999a). Este proceso, como se explicará más adelante, utiliza los aminoácidos para la síntesis de glucosa, principal sustrato para producir energía y único en algunos órganos. Primero explicaremos la vía metabólica por la que la glucosa es

transformada para aportar sustrato oxidable para la producción de energía, esta es llamada *Glucólisis*.

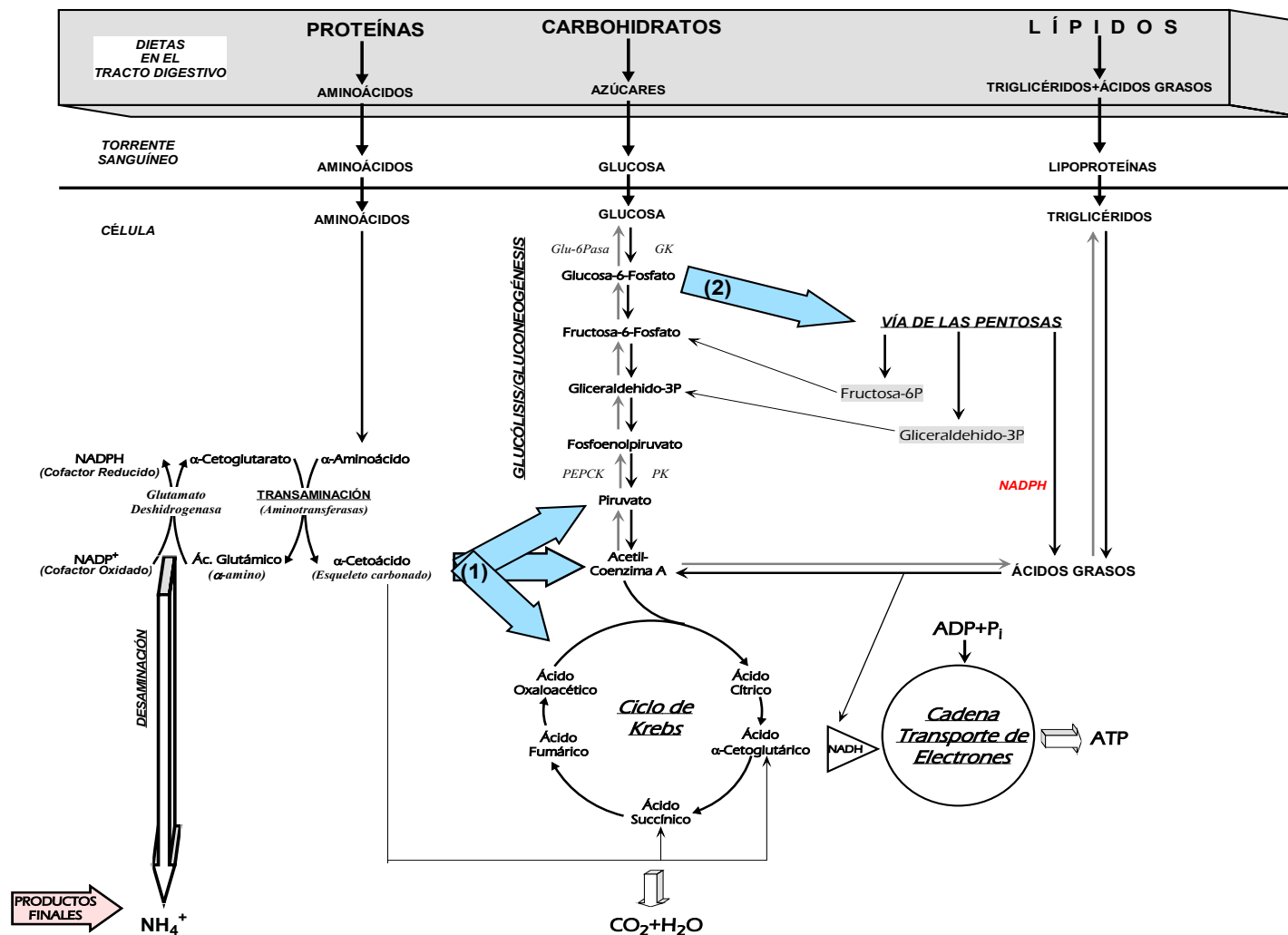
### ***Glucólisis (degradación de glucosa).***

La glucólisis es el proceso en el cual la glucosa es degradada a ácido pirúvico (produciéndose 2 moléculas de ácido pirúvico por molécula de glucosa), liberando una pequeña fracción de la energía que contiene para ser utilizada en el metabolismo celular (Lehninger, 1984; Fontanillo-Merino *et al.*, 1985), y se lleva a cabo en los tejidos de los peces (Cowey y Walton, 1989; Bonamusa, 1991; Bonamusa *et al.*, 1992; Metón *et al.*, 1999a,b). En sí, la glucólisis es una etapa intermedia del catabolismo de los azúcares y la primera fase de la respiración celular, tanto en los organismos aeróbicos como en los anaeróbicos. En las células aeróbicas, la glucosa aporta sustratos oxidables para la mitocondria (en el Ciclo de Krebs, figuras 1-4 y 1-8), mientras que en condiciones anaerobias la glucosa es convertida a lactato (Lehninger, 1984). El metabolismo aeróbico de la glucosa lleva a una producción total de 36 moléculas de ATP, de las cuales, 2 se producen vía glucólisis y 34 vía ciclo de Krebs (Jobling, 1994).

En la vía glucolítica se presentan procesos de isomerización y fosforilación de algunas hexosas (Glucosa-6P, Fructosa-6P y Fructosa-1,6P<sub>2</sub>) hasta llegar a una escisión molecular para formar 2 triosas (el Gliceraldehído-3P y la Dihidroxiacetona-P). Por lo anterior, todo el proceso es doble a partir de este momento, originando como producto final 2 moléculas del ácido pirúvico (Stryer, 1995).

El balance energético de la glucólisis es de 2 moléculas de ATP netas y otras tantas NADH. Por tanto, la glucólisis es un proceso productor de energía química (en forma de ATP) y de energía reductora (en forma de NADH).





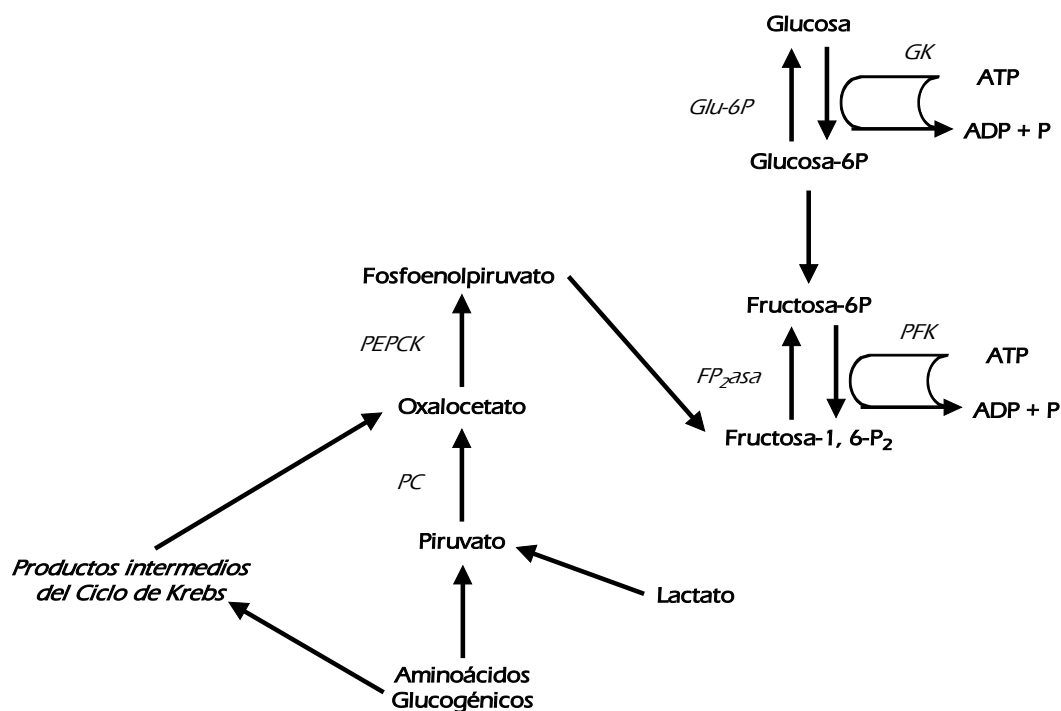
**Figura 1-8.** Vías metabólicas de los carbohidratos, presentando sus conexiones con el metabolismo de las proteínas y los lípidos. Las vías más importantes están subrayadas. Las vías representadas por las flechas de mayor tamaño son activadas cuando: 1) la dieta contiene exceso de proteínas y/o es deficiente en carbohidratos; y 2) la dieta contiene altos niveles de carbohidratos y/o es deficiente de grasas. Modificado de [Campbell y Smith \(1982\)](#), [Jobling \(1994\)](#) y [Stryer \(1995\)](#).

Parece ser que la actividad glucolítica es mayor en los músculos cardiacos y óseo de los peces que en los tejidos del hígado y riñón (varios autores en Cowey y Walton, 1989).

El control de la gluconeogénesis y la glucólisis es muy importante, especialmente en el hígado, donde ambas vías operan. Este control se ejerce, entre otros, mediante los niveles de la fructosa-2,6P<sub>2</sub>. Por otra parte, la ruta de las pentosas juega un papel activo en el suplemento de equivalentes reductores para la lipogénesis cuando los peces son alimentados con dietas bajas en grasas y/o ricas en carbohidratos (NADP<sup>+</sup>→NADPH).

### Gluconeogénesis (formación de glucosa).

La mayoría de los carbohidratos encontrados en el tejido animal (glucoproteínas, monosacáridos distintos a la glucosa, disacáridos, entre otros) son sintetizados a partir de la glucosa o la Glu-6P (Cowey y Walton, 1989; Jobling, 1994). En ausencia de esta se puede dar un proceso de biosíntesis para su formación a partir de precursores sencillos, como el piruvato, el lactato, además de otros no glucídicos como los productos intermedios del Ciclo de Krebs y algunos aminoácidos provenientes de las proteínas aportadas en el alimento (alanina, serina, fenilalanina y tirosina), los cuales aportan carbonos para este proceso (Black *et al.*, 1961; en Steffens, 1987; ver figura 1-9).



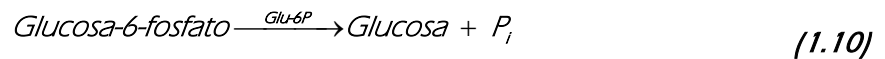
**Figura 1-9.** Vías precursoras en la Gluconeogénesis o formación de glucosa (lactato, aminoácidos glucogénicos y otros compuestos provenientes del Ciclo de Krebs). Abreviaciones: *Glu-6P*, Glucosa-6-fosfatasa; *GK*, Glucoquinasa; *PC*, Piruvato carboxilasa; *PEPCCK*, Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, *FP<sub>2</sub>asa*, Fructosa bifosfatasa y *PFK*, Fosfofructo quinasa. Modificado de Campbell y Smith (1982) y Stryer (1995).

El principal sitio para desarrollarse la gluconeogénesis es en las mitocondrias del hígado, aunque tomando en cuenta la distribución de las enzimas gluconeogénicas, también el riñón presenta capacidad para llevar a cabo este proceso. El funcionamiento de los procesos depende de la cantidad específica de las enzimas presentes en las mitocondrias, lo cual puede diferir entre especies de peces (varios autores en Cowey y Walton, 1989). La

conversión a glucosa tiene un alto costo energético que es aportado por el ATP y el GTP (Fontanillo-Merino *et al.*, 1985).

Dentro del proceso, la vía del lactato es común a la del piruvato tras la conversión del primero en este último (ver figura 1-9). Los productos intermedios del Ciclo de Krebs pueden oxidarse y convertirse en oxaloacetato (al igual que las vías enzimáticas del lactato y el piruvato mencionadas, aunque estos mediante la *PC*, ecuación 1.12), que a su vez se transforma en Fosfoenolpiruvato y éste en 3-Fosfogliceraldehido (ecuación 1.10), y finalmente, previo a la formación de la glucosa, dar origen a la Glu-6P (Fontanillo-Merino *et al.*, 1985).

Los *aminoácidos glucogénicos* proporcionan sus esqueletos carbonados para formar piruvato o intermediarios del Ciclo de Krebs que, como se observó con anterioridad, son precursores del fosfoenolpiruvato y, por tanto, de la glucosa-6fosfato (Fontanillo-Merino *et al.*, 1985; Stryer, 1995). Como la conversión de glucosa a piruvato por glucólisis lleva a la formación de solo dos moléculas de ATP, entonces la síntesis de la glucosa desde el piruvato puede verse como un proceso relativamente costoso (Cowey y Walton, 1989; Stryer, 1995).



Cowey y colaboradores (1977, en Cowey y Walton, 1989) sugieren que la síntesis de la glucosa a partir de precursores no glúcidos (*i.e.* aminoácidos, grasas), puede ser una importante vía en los peces carnívoros que normalmente consumen alimento bajo en carbohidratos.

La gluconeogénesis se ve afectada por el nivel de carbohidratos y proteínas en el alimento, debido a que si el nivel dietario de carbohidratos es deficiente, el nivel de glucosa disponible en la sangre para aportar sustrato a la producción de energía tiende a bajar, lo cual activa los procesos de transaminación y desaminación de aminoácidos, cuyos esqueletos carbonados son utilizados para la formación de glucosa, mientras que su grupo  $\alpha$ -amino es desechado a través de la excreción de amonio y urea. Cuando las proteínas son aportadas en exceso por la dieta, parte de los aminoácidos que sobrepasan a los requerimientos de síntesis son desviados a la gluconeogénesis, incrementando la excreción del nitrógeno proveniente de dichos aminoácidos (Pandian y Vivekanandan, 1985; Tacon y Cowey, 1985; Jobling, 1994). Otro factor que afecta a la gluconeogénesis es la inclusión de cobalto y cromo en las dietas (Hertz *et al.*, 1989), metales que están ligados al metabolismo de la glucosa, específicamente con la actividad de algunas enzimas y/o hormonas que intervienen en el proceso de síntesis de esta.

Por su parte, Renaud y Moon (1980a, en Cowey y Walton, 1989), reconocen tres papeles de la gluconeogénesis:

- (a) reciclado del lactato muscular,
- (b) síntesis de glucosa a partir de aminoácidos provenientes de la dieta para completar la ingesta de glucosa dietaria, y
- (c) producción de glicerol para la lipogénesis.

### ***Vía de las pentosas fosfato (síntesis de ácidos grasos).***

Mientras que la glucosa es catabolizada por el pez para ser usada en la generación de ATP vía glucólisis y Ciclo de Krebs, otras vías menores están diseñadas para proveer a los tejidos de algunas moléculas específicas. Una de estas es la *Vía de las Pentosas Fosfato* (V5P), la cual lleva a la formación de dos productos en particular, NADPH (la cual aporta el poder reductor para la formación de los dobles enlaces en la síntesis de ácidos grasos) y la Ribosa-5P (Cowey y Walton, 1989).

A pesar del escaso conocimiento de las enzimas envueltas en la V5P, Cowey y Walton (1989), la interpretan como fundamental en la degradación de la glucosa en los peces, siendo activada bajo condiciones específicas de alimentación, es decir, cuando la dieta aporta carbohidratos en exceso y/o, es deficiente en lípidos (Bonamusa *et al.*, 1992; Jobling, 1994; Metón, 1996). Se ha visto para algunos peces sometidos a periodos de ayuno, que la realimentación promueve, una vez recuperados los niveles de glucógeno y de síntesis proteica, una recuperación de la actividad enzimática en la vía de las pentosas fosfato (*Glu-6P DH* y *6-PG DH*). Cuando se recupera la actividad enzimática, se promueve entonces la lipogénesis, y por tanto, la acumulación de lípidos corporales (sobre todo en el hígado).

En la primera fase de esta vía, la *Glu-6P* se oxida totalmente en dos pasos sucesivos, dando lugar a NADPH, poder reductor útil en la formación de ácidos grasos, que es el principal objetivo de la vía de las pentosas fosfato (Metón, 1996). Posteriormente se produce una fase de intercambio de azúcares fosfato con el fin de obtener Ribosa-5P (precursor de ácidos nucleicos) o, cuando esta no es necesaria, se puede regenerar la producción de hexosas fosfato vía gluconeogénesis, continuando así la producción de NADPH. La regulación de la vía se produce fundamentalmente mediante el control de las reacciones de oxidación, catalizadas por la *Glu-6P DH*, enzima que efectúa la conversión de *Glu-6P* a 6-Fosfogluconato y Lactona, y por medio de la *6-PG DH* (6-Fosfogluconato Deshidrogenasa), que cataliza la transformación de 6-Fosfogluconato a Ribulosa-5P.

### **1.2.6. Utilización de los lípidos.**

En su mayor parte, los lípidos constituyen elementos de reserva energética y de protección en el ser vivo, aunque algunos lípidos complejos forman parte estructural de las membranas biológicas, participando activamente en diversos aspectos de la fisiología celular, como precursores en la síntesis de nuevas moléculas (hormonas esteroideas, pigmentos, factores de crecimiento y sales biliares), y en el transporte y absorción de ciertas vitaminas (Jobling, 1994).

Las biomembranas están compuestas de dos capas de lípidos con varios tipos de proteínas embebidas en ellas o asociadas con ellas; suelen contener aproximadamente un 25% de lípidos, con una cantidad determinada dependiendo de la especificidad de la membrana (membrana plasmática, mitocondria, retículo endoplasmático, etc) y el tejido del cual se deriva. Del mantenimiento de la composición de grasa depende el buen funcionamiento de la membrana. Los fosfolípidos son las grasas más comunes en las membranas de los tejidos animales. Las membranas de los tejidos de peces, como las del resto de animales, contienen Fosfatidil-colina como fosfolípido mayoritario, seguido por la Fosfatidil-etanolamina, entre otros componentes menores (Fosfatidil-serina, Fosfatidil-inositol, Cardiolipina y Esfingomielina); la composición de fosfolípidos depende del tipo de tejido.

Algunos lípidos presentan una importancia especial en la nutrición de peces, como en el caso de los ácidos grasos polinsaturados (*PUFAS* de tipo  $\omega$ -3, también llamados *n*-3), (Sargent *et al.*, 1989). La composición de lípidos de los peces en medio natural depende

del medio en el que viven, es decir, que la composición o por lo menos el tipo de ácidos grasos poli-insaturados (*PUFAS*) que contienen los peces de agua dulce no será igual a la que contienen los peces marinos. En el medio marino, el zooplancton se alimenta de microalgas que contienen aproximadamente un 20% de su peso seco como lípidos polares, y más del 50% de estos puede ser en forma de *PUFAS* ( $\omega$ -3). Los animales planctívoros contienen entre un 30 y 60% de lípidos neutros, de los cuales el 25% pueden estar en forma de *PUFAS* ( $\omega$ -3); y aproximadamente el 10% de estos se transfiere a los peces, de los cuales son alimento. Por último, los *PUFAS* de cadenas largas como  $C_{16}$  y  $C_{18}$  ( $\omega$ -3), que se encuentran bien representados en el fitoplancton, no son especialmente abundantes en el zooplancton ni en los peces, donde la mayoría de los *PUFAS* ( $\omega$ -3) son el 20:5 ( $\omega$ -3) y 22:6 ( $\omega$ -3) (Sargent *et al.*, 1989). Mientras que el 20:4 ( $\omega$ -3) y particularmente el 22:6 ( $\omega$ -3) son ácidos grasos abundantes en los peces, los aceites de pescado de agua dulce contiene mayores proporciones de ácidos *dienoico* y *trienoico*, especialmente 20:4 ( $\omega$ -6) que su contraparte marina. De manera inversa, las concentraciones de 20:5 ( $\omega$ -3) y 22:6 ( $\omega$ -3) decrecen de alguna manera en los peces de agua dulce, al compararlos con los peces marinos (Cowey y Sargent, 1972).

La digestión de los lípidos comienza por la acción de enzimas del páncreas (*lipasas*), mientras que las sales biliares facilitan su absorción como ácidos grasos en el intestino. La parte más importante del metabolismo de los lípidos tiene lugar en el hígado bajo un control endocrino en el que intervienen la insulina, las hormonas tiroideas, la hormona de crecimiento y la adrenalina, control que depende de las características de la alimentación (Jobling, 1994).

Al igual que los aminoácidos, los lípidos son un sustrato para la producción de energía. La oxidación de los ácidos grasos se lleva a cabo mediante la vía llamada  *$\beta$ -oxidación*, que tiene como resultado la formación de acetil-CoA, el cual entra al ciclo de Krebs. Primero se activan, enzimáticamente, las cadenas largas de ácidos grasos con un paso que requiere energía (gasto de ATP), formando finalmente el éster del ácido graso de CoA. A continuación una serie de pasos produce acetil-CoA y un éster de ácido graso que presenta dos átomos de carbono menos que el ácido graso original. A su vez, este éster se convierte en sustrato para una nueva serie de reacciones (oxidación), terminando en la producción de una nueva molécula de acetil-CoA. Esta etapa se repite varias veces, dependiendo del tamaño del ácido graso. Cada vez que el ácido graso se oxida, la molécula pierde un fragmento de dos carbonos como acetil-CoA y se genera NADH a partir de  $NAD^+$  (Jobling, 1994).

Como un ejemplo, el ácido palmítico 16:0 puede llevar a cabo unos siete ciclos de este tipo y producir 8 moléculas de acetil-CoA y 14 átomos de hidrógeno. El acetil-CoA obtenido por la oxidación de ácidos grasos entra en el ciclo de Krebs, y la completa oxidación del ácido palmítico produce 129 moléculas de ATP de la siguiente manera: en el espiral de  *$\beta$ -oxidación* se producen 8 acetil-CoA, aportando 35 ATP. Por otro lado, cada acetil-CoA en el ciclo de Krebs produce 12 ATP ( $8 \times 12 = 96$  ATP). En total hay una producción de 131 ATP, aunque son necesarias 2 ATP para activar la oxidación de los ácidos grasos, por lo que en realidad hay una producción neta de 129 moléculas de ATP.

Otro tipo de lípidos encontrados en los peces son los fosfolípidos, los cuales tienen algunas funciones como la determinación de la estructura y fluidez celular, además de ser precursores de otros compuestos (Jobling, 1994). Por ejemplo, el Fosfatidil-inositol además de ser un constituyente menor en biomembranas, juega un papel en la transducción de señales hormonales (acople de estímulo-secreción, y en la provisión de precursores para la formación de prostaglandina). Por otro lado, el mantenimiento de la fluidez celular es gobernado por la composición de ácidos grasos, es decir, por la cantidad de dobles enlaces que presentan. El balance entre ácidos grasos saturados y monoinsaturados mantiene el estado fluido de la membrana, respondiendo a los cambios en la proporción

total de fosfolípidos o la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos. Lo anterior es controlado por los cambios de temperatura (Sargent *et al.*, 1989).

Los peces, entre otros animales, parecen no ser capaces de sintetizar ácidos grasos poli-insaturados de las series ( $\omega$ -3) y ( $\omega$ -6), más de estos primeros [como el 20:4 ( $\omega$ -3) y particularmente el 22:6 ( $\omega$ -3)], por lo que estos son nutrientes esenciales, lo que significa que deben ser aportados por las dietas. En algunos trabajos se ha visto que los peces presentan buenas tasas de crecimiento con dietas bajas en ácidos grasos de la serie ( $\omega$ -6) (Jobling, 1994).

En la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss*, por ejemplo, se ha observado que cuando han sido alimentadas con dietas conteniendo ácidos grasos de la serie ( $\omega$ -3), estas presentaron un buen desarrollo; aunque no crecen cuando fueron alimentadas con dietas que contenían solo *PUFAS* de la serie ( $\omega$ -6) (Jobling, 1994). Este grupo de compuestos es conocido por tener un número de papeles fisiológicos centrales en la regulación de la respiración y funciones reproductivas. Por otro lado, la trucha presenta un requerimiento esencial pequeño por la serie ( $\omega$ -6), específicamente por el *PUFA* 20:4 ( $\omega$ -6).

Para el rodaballo se obtiene un buen crecimiento cuando en la dieta se incluyen los *PUFAS* 18:2 ( $\omega$ -6), 18:3( $\omega$ -3) ó 20:4 ( $\omega$ -6); aunque tomando en cuenta la incapacidad que tiene este pez para alargar y desaturar el 18:3 ( $\omega$ -3), requiere que se proporcionen en la dieta los *PUFAS* 20:5 ( $\omega$ -3) y el 22:6 ( $\omega$ -3). El requerimiento de estos ácidos grasos pueden representar un nivel del 0.8% de la dieta para peces de 85 grs, llegando hasta un 4% en peces de 200 grs.

Algunos peces carnívoros marinos (incluyendo a la dorada) no son capaces de alargar o desaturar los ácidos grasos de cadena corta ( $\omega$ -3) y ( $\omega$ -6), por lo que los requerimientos de 18:2 ( $\omega$ -6), 20:5 ( $\omega$ -3) y 22:6 ( $\omega$ -3) deben ser aportados con la dieta (Sargent *et al.*, 1989; Jobling, 1994).

Otros peces muestran capacidad bioquímica para la elongación y desaturación de las cadenas de ácidos grasos, por lo que sus requerimientos esenciales de *PUFAS* (de doble enlace), pueden ser del 18:3 ( $\omega$ -3) y el 18:2 ( $\omega$ -6), solamente (Sargent *et al.*, 1989; Jobling, 1994).

En el caso del salmón, del total de lípidos de la dieta, se recomienda un 20% de ácidos grasos como 18:3 ( $\omega$ -3) ó 10% de *PUFAS* de cadena larga como 20:5 ( $\omega$ -3) ó 22:6 ( $\omega$ -3), 1% como 18:2 ( $\omega$ -6) y 18:3 ( $\omega$ -3) ó 0.5-1% como *PUFAS* ( $\omega$ -3) de cadenas mayores (Jobling, 1994).

Una deficiencia de los *PUFAS* se refleja en una baja conversión del alimento y lento o nulo crecimiento. Una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales puede provocar, en algunas especies, infecciones que erosionen las aletas y/o las mandíbulas. La acumulación de grasa en el hígado, también puede ser provocado por la deficiencia de algún ácido graso esencial que inhiba el transporte de lípidos desde el hígado. Otras afectaciones observadas en algunos peces son la reducción en la producción y la calidad de los huevos, daños en el riñón y reducción en el tamaño del hígado (Jobling, 1994).

### 1.3. EXCRECIÓN DE NITRÓGENO

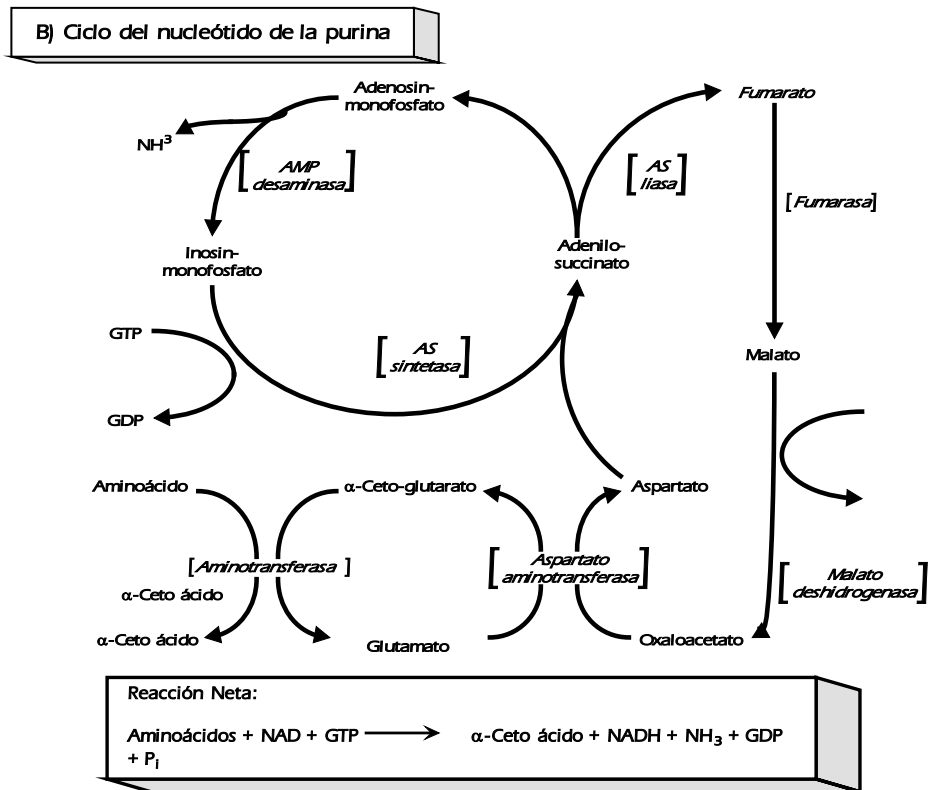
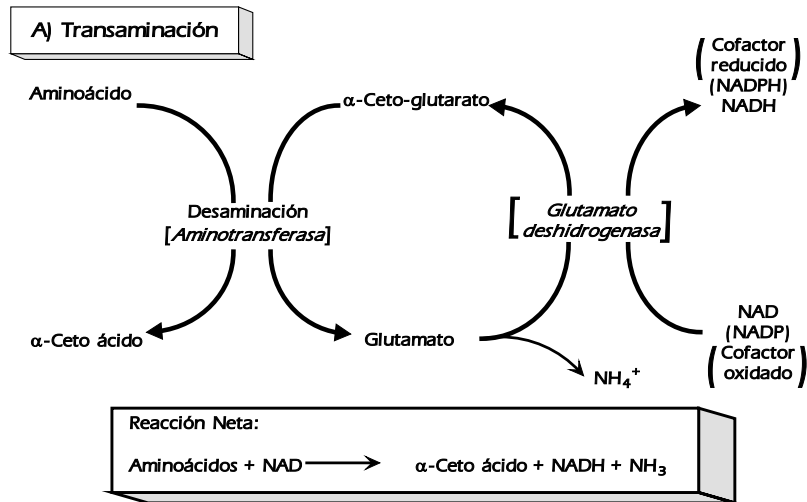
Ya hemos revisado el tema de la utilización de las proteínas en el apartado 1.2.4. En este se explican los requerimientos proteicos para distintas especies de peces, el perfil de aminoácidos esenciales en las dietas y el papel que tienen las proteínas dentro del metabolismo energético y de síntesis de tejidos. En el presente apartado explicaremos como se lleva a cabo la degradación de los aminoácidos y las vías por las que se desechan los residuos nitrogenados (amonio y urea), así como su importancia.

#### 1.3.1. Origen y formas de nitrógeno excretado.

Los requerimientos proteicos de un animal se definen como la ingesta de proteína requerida para mantener el equilibrio del nitrógeno. Un animal mantiene el equilibrio de nitrógeno cuando la ingesta de este elemento es igual a su excreción, sin presentarse cambios en el peso corporal del animal. Ya hemos visto en el punto 1.2.3 que en las células animales se llevan a cabo cambios constantes, en los cuales los componentes celulares sufren permanentes procesos de degradación y síntesis; por lo que es necesario un suplemento continuo de aminoácidos para mantener la composición corporal. Los aminoácidos son utilizados para la síntesis de proteínas y componentes celulares menores; y son removidos por degradación a través de las vías oxidativas. Por consiguiente, el reemplazo de estos aminoácidos representa los requerimientos mínimos para aminoácidos en la dieta o los requerimientos proteicos de mantenimiento (Wilson, 1989).

La mayor parte de las proteínas aportadas por la dieta sirven para la construcción de nuevos tejidos (entre 30% y 35%) o para proporcionar energía (25-30%) (Tátrai, 1986; Wilson, 1989; Jobling, 1994). El aprovechamiento de las proteínas de la dieta (normalmente el elemento más costoso) depende, en gran medida, tanto del contenido energético del pienso ofrecido en relación con las demandas del animal, como de la proporción en que se encuentran los tres nutrientes calóricos, circunstancias que condicionan la cantidad de proteína dietética que va a ser utilizada por el animal con fines energéticos y no para el crecimiento, como conviene al piscicultor (García-Gallego *et al*; 1993). Como hemos visto anteriormente, solo las cadenas de carbono de los aminoácidos son utilizados como sustrato respiratorio (Cowey y Walton, 1989; Stryer, 1995). Las fracciones de nitrógeno de los aminoácidos (grupos  $\alpha$ -amino) que se producen cuando las proteínas han sido utilizadas como sustrato respiratorio no pueden ser metabolizadas y por consiguiente, son excretadas (Cowey y Walton, 1989; Jobling, 1994). Los procesos bioquímicos por los que los grupos  $\alpha$ -amino son removidos de los aminoácidos se conocen como *transaminación* y *desaminación* (figura 1-10). Estas son vías enzimáticas que llevan a la producción de amonio a partir de los aminoácidos. La desaminación también ocurre cuando los aminoácidos absorbidos desde la fracción proteica del alimento son usados para la síntesis de productos de reserva energética como los lípidos y el glucógeno (Jobling, 1994).

Las vías de desaminación de las proteínas pueden dividirse en dos grandes grupos. El primer tipo de vía es capaz de producir amonio a partir de una variedad de aminoácidos por transferencia de los grupos  $\alpha$ -amino a un aceptor común, el cual se transforma en un sustrato para la desaminación. La producción indirecta de amonio a partir de aminoácidos puede ocurrir tanto por transaminación (ver figura 1-10A) o vía el Ciclo de las Purinas (figura 1-10B).



**Figura 1-10.** Procesos de desaminación de proteínas que tienen como producto el amonio: a) Transdesaminación, b) Ciclo de la purina. Modificado de [Cowey y Walton \(1984\)](#) y [Jobling \(1994\)](#).



En la transaminación, el grupo  $\alpha$ -amino de los aminoácidos se transfiere al ceto-glutarato con ayuda de unas enzimas llamadas *amino-transferasas*, y el glutarato que resulta de esta serie de reacciones es desaminado por la enzima Glutamato deshidrogenasa (*GDH*). El proceso dentro del *Ciclo de las Purinas* comporta la transferencia inicial de los grupos  $\alpha$ -amino de los aminoácidos al oxaloacetato, lo cual se lleva a cabo por las enzimas *amino-transferasas*. Entonces el aspartato producido, es desaminado vía fumarato y malato, por una serie de enzimas que utilizan los nucleótidos de las purinas como catalizadores intermediarios.

El segundo grupo de vías contienen un número de enzimas específicas, las cuales producen amonio a partir de aminoácidos simples por desaminación directa. De las diferentes vías enzimáticas presentes en los peces, la transaminación a través de glutamato es considerada como la vía más importante (Jobling, 1994).

De esta manera, el proceso de desaminación conduce a la liberación de los grupos  $\alpha$ -amino en forma de amonio que no pueden ser reciclados a través de otros procesos metabólicos. El amonio es excretado, lo cual representa una pérdida energética para el pez (Jobling, 1994). La desaminación de las proteínas y aminoácidos se lleva a cabo principalmente en el hígado y el riñón, aunque también de alguna forma en el músculo (en mayor grado en peces de músculo rojo que en los de músculo blanco). Debido a esto, la excreción de compuestos disueltos nitrogenados proviene principalmente de estos órganos. En el caso de peces carnívoros como la dorada, el nitrógeno disuelto significa la vía de pérdida mayoritaria de nitrógeno (Cho y Kaushik, 1985; Weatherley y Gill, 1987; Mommsen y Walsh, 1992; Dosdat *et al.*, 1996).

De la fracción de nitrógeno excretado, entre el 60-90% es liberado en la región de la cabeza de forma pasiva, a través de las branquias. El resto del nitrógeno es liberado a través de la orina y la piel (Soofiani y Hawkins, 1985). Sayer y Davenport (1987) encontraron que los peces marinos concentran en la región de la cabeza entre el 50-70% de la excreción total de nitrógeno, mientras que la tilapia (un pez dulceacuícola) concentra cerca del 90% en esta región. Aunque ambos excretan la mayoría del nitrógeno en forma de amonio, los peces marinos lo hacen a través de las branquias y la piel, mientras que la tilapia libera la totalidad del nitrógeno a través de las branquias, tanto en forma de amonio como de urea.

En general, los peces teleósteos son amoniotélicos. Esto significa que el principal producto final de la degradación de los aminoácidos es el amonio. En los teleósteos es poco significativo el ciclo de la urea (figura 1-10), debido a que las enzimas que intervienen en este son escasas (Cowey y Walton, 1989). En cambio, en los elasmobranquios, los niveles de enzimas relacionadas al ciclo de la urea son mucho más altos, por lo que estos peces presentan en el cuerpo mayores niveles de urea que los teleósteos. En este caso, los altos niveles de urea en la sangre y el tejido muscular están más relacionados con la osmorregulación que con la excreción (varios autores, citado en Cowey y Walton, 1989).

De la excreción total de residuos nitrogenados, el amonio representa entre el 60-90% (Soofiani y Hawkins, 1985; Cowey y Walton, 1989), la urea entre el 13-46% (Sayer y Davenport, 1987) y el resto se presenta como trimetil-amina (TMA), óxido de trimetil-amina (TMAO), aminoácidos, ácido úrico, creatina y creatinina (Soofiani y Hawkins, 1985; Jobling, 1994).

Aunque el amonio y la urea tienen una alta importancia en términos de nitrógeno ingerido, solo el 7% de la energía consumida por los peces carnívoros, es excretada en alguna de las formas nitrogenadas (Soofiani y Hawkins, 1985). Este valor puede ser menor en algunas especies de peces cultivados debido al mejoramiento de las dietas comerciales y ajuste de los requerimientos proteicos. La pérdida de nitrógeno por excreción es

importante en la acuicultura porque, junto con el nitrógeno fecal, representa una potencial reducción en la acumulación corporal de las proteínas y un incremento de desechos potencialmente perjudiciales en el medio (Knights, 1985).

### ***Excreción de nitrógeno total en forma de amonio.***

Según Rychly (1980) el amonio compone entre el 80 y 98% de la excreción nitrogenada en los peces de agua dulce y entre el 75-85% en peces marinos, lo cual ha sido corroborado en algunos estudios (Soofiani y Hawkins, 1985; Cowey y Walton, 1989; Jobling, 1994; Boyce, 1999).

Como el amonio es el producto que resulta del catabolismo de las proteínas (Stryer, 1995), las tasas de excreción de este revelan el nivel de aprovechamiento de las proteínas provenientes de las dietas por parte de los peces. Se ha encontrado una relación directa entre la ingesta de proteínas dietarias y la excreción de amonio (Kaushik y Luquet, 1991; Ballestrazzi *et al.*, 1994), por lo que la tasa de excreción de amonio puede ser utilizada como un índice para comparar la eficiencia de la utilización de las proteínas dietarias por la trucha arcoiris (Ming, 1985; en Cai *et al.*, 1996) y la lubina (Ballestrazzi *et al.*, 1994); y como una manera de determinar el contenido óptimo de proteínas en la dieta (Cai *et al.*, 1996). Si la utilización proteica por el pez es pobre, la dieta debe ser considerada como inadecuada y contribuye más a la contaminación del medio acuático que al crecimiento y mantenimiento del pez.

Se ha observado para distintas especies de peces que otros factores, además de la composición de la dieta (nivel proteico y de carbohidratos), presentan una relación directa con la excreción en forma de amonio, como la talla corporal, el nivel de alimentación y la temperatura (Tátrai, 1986; Leung *et al.*, 1999; Peres y Oliva-Teles, 1999).

Los peces carnívoros utilizan una parte importante de las proteínas que ingieren para producir energía, aún en presencia de otras fuentes energéticas como los carbohidratos. Por ello, los niveles de residuos nitrogenados en los efluentes de las granjas de cultivo suelen ser altos. Dado el efecto eutrofizante del amonio y la toxicidad de este en su forma no ionizada en el medio marino (amoníaco o  $\text{NH}_3$ ) (Mommensen y Walsh, 1992; Kelly *et al.*, 1994); el nivel de excreción de amonio es también un indicador del grado de incidencia que presentan los cultivos de dorada sobre la calidad del agua del cultivo y los cuerpos de agua receptores de estos efluentes, aunque su incidencia depende también de los factores predominantes en el medio (como la salinidad, la temperatura, niveles de oxígeno y el pH) y de los procesos fisiológicos del stock (Bower y Bidwell, 1978; Wajsbrot *et al.*, 1991; Kelly *et al.*, 1994; Person-Le Ruyet *et al.*, 1997a). Por todo lo anterior, se hace necesario reducir en lo posible la cantidad de proteínas en los cultivos comerciales.

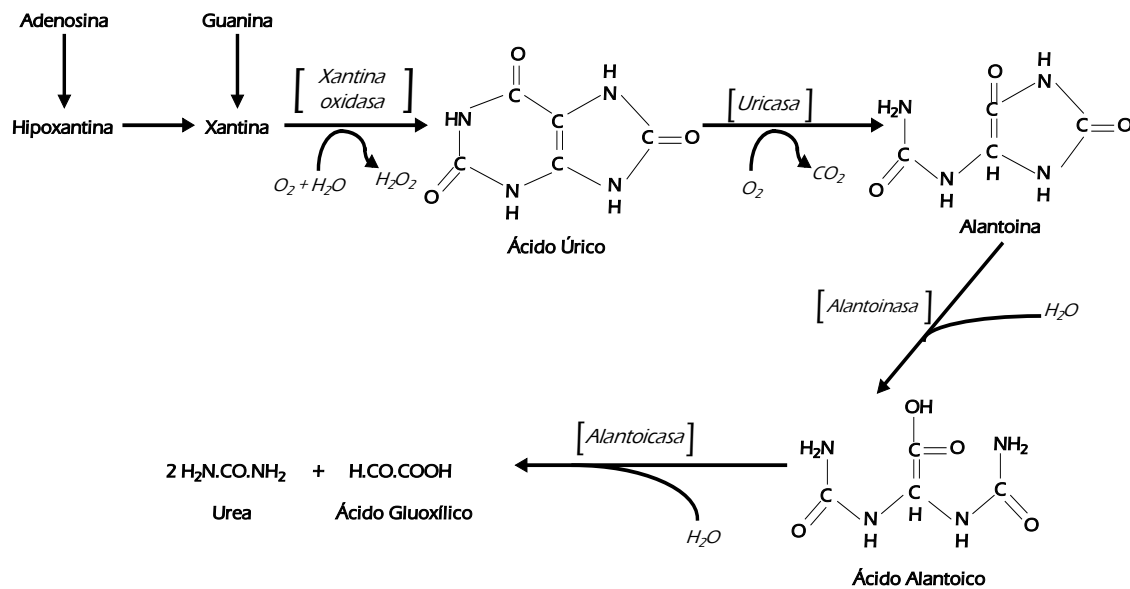
### ***Excreción de nitrógeno en forma de urea.***

Además del amonio, otros productos de la excreción de nitrógeno son la urea y la creatina, ésta última en menor cantidad que la primera. Estos productos finales nitrogenados pueden ser excretados junto con la orina, a través de la piel o a través de las branquias. Por otra parte, la urea puede significar entre el 13 y 46% del nitrógeno total excretado por los peces (Brett y Zala, 1975; Sayer y Davenport, 1987; Jobling, 1994).

El ciclo de la urea-ornitina no es significativamente funcional en los teleósteos (solo en los elasmobranquios y peces pulmonados), por lo que la urea excretada por estos peces debe ser producida por otra fuente. Las dos vías más probables son el catabolismo de la arginina (*Arg*) y de las purinas. Los mayores niveles de Arginasa se presentan en el hígado

y en el riñón. Por otro lado, las concentraciones de arginina en los tejidos son usualmente menores que el  $K_m$  de la Arginasa, por lo tanto, es común que la actividad enzimática sea mucho menor que su potencial de máxima actividad. De esta manera, la principal fuente de la excreción de urea es el ciclo de las purinas (ver figura 1-10) con la *uricolisis* como el principal proceso productor de urea. En los mamíferos el producto final del ciclo de las purinas es el ácido úrico; pero en el caso de los peces existen unas enzimas necesarias para convertir el ácido úrico a urea (*uricasa*, *alantoinasa* y *alantoicasa*). Estas enzimas han sido detectadas en el hígado de los peces, pero no en el riñón, piel, cerebro, músculo o branquias (Jobling, 1994).

Las especies marinas excretan una mayor proporción de urea, creatina y purinas que las especies dulceacuícolas. Esto puede deberse, en parte, a que los peces marinos pierden importantes cantidades de residuos nitrogenados a través de las secreciones de *mucus*, que se presentan en la superficie de la piel (Sayer y Davenport, 1987; Sayer, 1988), lo cual no se ha observado para las especies dulceacuícolas.



**Figura 1-11.** Catabolismo de las purinas (alantoína y ácido úrico) y producción de urea (vía uricolisis). Tomado de Cowey y Walton (1989); y Jobling (1994).

El amonio es el principal producto de la excreción nitrogenada en la mayoría de los organismos acuáticos, debido principalmente a las siguientes razones (Jobling, 1994):

- Los costes de energía durante la síntesis de amonio son mínimos comparado con aquellos requeridos para los procesos de síntesis de urea y ácido úrico.
- El amoníaco ( $NH_3$ ) es una molécula lipofílica relativamente pequeña que se difunde fácilmente a través de la membrana branquial, desde el torrente sanguíneo al medio acuático circundante; mientras que la permeabilidad de difusión del amonio ( $NH_4^+$ ) es menor, lo más probable es que las pérdidas por difusión ocurran principalmente en la forma no ionizada.
- Existen evidencias de que el amonio ( $NH_4^+$ ) presenta la facilidad de intercambiarse con el sodio ( $Na^+$ ) del medio acuoso facilitando su liberación, aunque la importancia de esta vía puede diferir entre especies.

### 1.3.2. Toxicidad del amonio y sus efectos.

Es bien conocida la toxicidad del amonio para los peces, y aunque es menos conocido su efecto sobre los invertebrados, su efecto sobre estos parece ser mayor (Abel, 1989). El amonio es un gas que es altamente soluble en el agua, y en soluciones acuosas el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) mantiene un equilibrio con el ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y los iones hidroxilo.



Cuando la concentración de amonio en el agua circundante a las branquias se eleva, se reduce el gradiente de difusión para el amonio, desde la sangre hacia el agua, reduciendo el epitelio sobre las branquias. Esto puede llevar a una reducción de la tasa de difusión del amonio hacia el exterior del pez, causando un incremento de amonio en la sangre y, posiblemente, presentarse una reacción tóxica. Una manera por la cual algunos peces pueden reducir el riesgo de toxicidad por amonio es incrementar la conversión de amonio a urea, un producto de excreción mucho menos tóxico (Mommsen y Walsh, 1992; Jobling, 1994). El amoníaco es muy tóxico para la mayoría de los organismos, pero el ión amonio es solo moderadamente tóxico (Abel, 1989). El balance de la ecuación 1.13 entre el ion amonio y el amoníaco depende de factores del medio como el pH, la temperatura y la fuerza iónica de los fluidos circundantes (Bower y Bidwell, 1978; Mommsen y Walsh, 1992; Jobling, 1994). Si la temperatura o el pH se incrementan, la fracción de amonio en su forma no ionizada aumenta. Existen algunos métodos para calcular la proporción de amonio tóxico en el medio acuático que se basan en la temperatura, el pH y la salinidad (Bower y Bidwell, 1978).

El hígado es el responsable de los transitorios aumentos de excreción de amonio, pues la desaminación de los compuestos nitrogenados contenidos en las dietas se llevan a cabo en este órgano. Otros órganos externos como las branquias y la piel (en los peces marinos), están involucrados comúnmente en la liberación de amonio; dichos incrementos de excreción adquieren mayor importancia durante la hepatectomía o los cambios naturales con énfasis metabólico en el hígado. (Sayer y Davenport, 1987; Wajsbrot *et al.*, 1991; Person-Le Ruyet *et al.*, 1997a). A este respecto, Saha y colaboradores (en Mommsen y Walsh, 1992) indican que la excreción de nitrógeno a través de las branquias significan más del 99% de la excreción total en el bagre. En el caso de los peces carnívoros como la dorada, la mayor parte de la excreción de nitrógeno se realiza en forma de amonio y de una manera más activa a través de la orina (Wajsbrot *et al.*, 1991; Person-Le Ruyet *et al.*, 1997a). Sayer y Davenport (1987) demostraron que no todos los peces excretan el amonio en iguales proporciones por las branquias o la orina, a pesar de que los niveles de excreción de amonio con respecto al nitrógeno total excretado no sufren cambios.

El alimento no ingerido por los peces, junto con las heces y compuestos nitrogenados excretados son los principales componentes de los efluentes de las piscifactorías (Jobling, 1994). Por otro lado, la pérdida de nitrógeno a través de la excreción es importante, tanto con respecto al desarrollo de los peces como desde el punto de vista ecológico (Ackefors y Enell, 1994). El amonio presenta un efecto tóxico y/o eutrofizante sobre el medio; por lo tanto, los niveles de excreción de amonio (o la fracción de amoníaco) en el medio puede ser un indicador del impacto que los residuos provenientes de las piscifactorías pueden tener sobre la calidad de las aguas del cultivo y sobre el metabolismo de los peces (Bower y Bidwell, 1978; Wajsbrot *et al.*, 1991; Kelly *et al.*, 1994; Person-Le Ruyet *et al.*, 1997a).

Cuando los peces son expuestos a compuestos potencialmente tóxicos, estos compuestos pueden entrar en el organismo y/o causar daños en la membranas de las branquias; es entonces cuando los tóxicos pueden afectar las funciones fisiológicas del pez en una gran variedad de formas (Jobling, 1994). La toxicidad por una exposición prolongada al

amonio se manifiesta con respuestas agudas, incluyendo la hiperventilación, natación errática, convulsiones, coma y finalmente la muerte. Por una exposición prolongada al amonio se observan también cambios histopatológicos en la estructura de las branquias con un engrosamiento general de la membrana epitelial e hiperplasia asociada (desarrollo excesivo de tejidos). También puede detenerse el desarrollo de la segunda lamela branquial, lo que lleva a una limitación del intercambio gaseoso efectivo, pues se reduce la superficie disponible para este fin. En casos extremos, la exposición al amonio puede resultar en una disfunción del riñón y daños en los tejidos del hígado (Jobling, 1994).

En las granjas piscícolas, la fracción de amoníaco, junto con la liberación de heces y residuos del alimento, repercute en una reducción de las tasas de crecimiento de los peces, además de producir una disminución de la supervivencia, entre otros efectos de salud (Porter *et al.*, 1987; Momsen y Walsh, 1999; Jobling, 1994). El crecimiento de los peces es afectado por niveles de amoníaco superiores a 0.1 mg N-ANI/litro, pero no se relaciona con la pérdida del apetito (Knights, 1985; Person-Le Ruyet *et al.*, 1997c). Niveles de amonio mayores que este valor en el medio de cultivo dan lugar a efectos de tipo fisiológico y morfológico (sobre el crecimiento, conversión del alimento, eficiencia de utilización de las proteínas y supervivencia); y una exposición mayor a 28 días, a niveles de umbral tóxico (2.3 mg N-ANI/litro), se observan efectos sobre la capacidad de reproducción (Knights, 1985).

La *European Inland Fishery Advice Commission* (EIFAC, en Abel, 1989) y Jobling (1994) recomiendan que, según la especie, en los medios de cultivo la concentración de amonio no ionizado no debe exceder el rango de 0.0125-0.025 mg N-ANI/litro. Posteriormente, Person-Le Ruyet y col. (1995) estimaron para los cultivos comerciales de la lubina (*Dicentrarchus labrax*), el rodaballo (*Scolophthalmus maximus*) y la dorada (*Sparus aurata*), que el nivel de amonio tolerable para evitar efectos tóxicos agudos era de 2.3 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/litro en forma de amonio (0.1 mg N-ANI/litro de amoníaco).

Por otro lado, se ha visto que el nivel de amonio en el plasma puede ser utilizado como un indicador muy sensible del nivel de intoxicación por amonio en peces marinos. Person-Le Ruyet y col. (1995) determinaron que la supervivencia de la dorada se ve afectada cuando la concentración de amonio en el plasma alcanza los 35-40 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/litro, mostrando así una tolerancia al amonio igual que la del rodaballo y mayor que la de la lubina (30 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/l).

Es común pensar que el amoníaco es la forma más tóxica del amonio total, tal vez debido a que este puede difundirse fácilmente a través del epitelio de las branquias; pero la fracción del ion amonio puede también ser tóxico. El amonio presente en un cuerpo de agua con pH bajo puede producir efectos tóxicos aún cuando el nivel de amoníaco se encuentre por debajo de los niveles letales. Sería una simplificación el atribuir efectos tóxicos solamente al amoníaco para pH altos, y al ion amonio para pH bajos, dado que habrá siempre una contribución de ambas formas (Jobling, 1994).

### 1.3.3. Medidas para mitigar el efecto del amonio/amoníaco y sus residuos.

Ya hemos visto cuales son los principales componentes del agua residual provenientes de las piscifactorías, así como los efectos que provocan sobre el medio acuático y los mismos organismos cultivados, pero la pregunta clave sigue en el aire, ¿cómo mitigar sus efectos?

Para darle respuesta, es primordial comenzar por disminuir la producción de tales residuos o evitar que se produzcan. A medida que se mejoren los componentes de las dietas, en cuanto a cantidad, calidad y proporción, se obtendrán mejores índices de utilización del alimento. Lo anterior, junto con el manejo adecuado del cultivo para cada la especie,

puede llevar a diseñar acciones para prevenir o mitigar los efectos de contaminación orgánica y de residuos nitrogenados en el propio medio de cultivo y aguas abajo de las piscifactorías (Porter *et al.*, 1987; Ackefors y Enell, 1994; Kelly *et al.*, 1994). Es aquí donde la investigación y el desarrollo de programas tienen una importancia relevante.

Los últimos avances han llevado a obtener alimentos de alto valor energético con una composición óptima adaptada a los requerimientos de energía de las especies, lo cual puede traducirse en una reducción de las descargas orgánicas y de nutrientes a los sistemas acuáticos. Gracias a la investigación se han desarrollado técnicas para coleccionar residuos de alimento y heces (Ackefors y Enell, 1994). Por otro lado, aportar en el alimento una fuente de proteínas apropiada (con el perfil de aminoácidos adecuado para cada especie) y la sustitución parcial de las proteínas en el alimento por carbohidratos como fuente de energía, mejoran la utilización de las mismas y la conversión del alimento, además de reducir los costos de producción de las piscifactorías (Cui y Liu, 1990; Kaushik, 1997; Leung *et al.*, 1999). Uno de los objetivos en este trabajo es mejorar la eficiencia de utilización de las proteínas, de modo que la mayor cantidad posible se destine a la producción de tejido y se minimice su uso como fuente de energía, dado que esto último conlleva un incremento en la excreción de amonio/amoniaco.

Otro aspecto a ser tomado en cuenta es el nivel de alimentación. Se ha visto que del alimento aportado a los peces, entre el 15 y 30% no es ingerido y permanece en el medio acuático (según la especie). Posteriormente estos residuos orgánicos alcanzan los efluentes y los sedimentos (Cui y Liu, 1990). Adecuar la ración de alimento de acuerdo a la especie cultivada, a la época del año (el metabolismo es afectado por la temperatura) y a la talla del individuo, llevará a elevar la eficiencia del alimento, reduciendo las entradas de materia orgánica a las masas de agua.

El cultivo de peces en tierra contribuye a la potencial eutrofización y acidificación de los cuerpos de agua localizados en la planicie costera (lagunas costeras y estuarios) y la zona cercana a la costa (bahías semi-cerradas), debido a la escasa o nula circulación que se presenta bajo ciertas condiciones a lo largo del año (Mommensen y Walsh, 1992; Comin y Martín, 1993). Una buena circulación artificial puede prevenir, en alguna temporada del año, incrementos de la temperatura y de salinidad en el medio, además de una reducción del oxígeno (Knights, 1985).

Como en el medio marino el nitrógeno es el principal nutriente limitante (Riley y Chester, 1971; Porter *et al.*, 1986; Ackefors y Enell, 1994), la adición de residuos nitrogenados pueden incrementar la productividad en la zona costera, además de modificar las condiciones tróficas locales (Porter *et al.*, 1986; y varios autores en Kelly *et al.*, 1994). Sin embargo en los cuerpos de agua cerrados, los efluentes provenientes de las granjas acuícolas pueden producir florecimientos algales, eutrofización y reducción del oxígeno disuelto, lo cual puede llevar a una mortalidad de los organismos locales (Leung *et al.*, 1999). Dichas condiciones están relacionadas con la disponibilidad de agua y/o presencia de vientos. En estos casos la utilización de los diseños de cultivo en jaulas provee de una oportunidad para cultivar en aguas costeras abiertas, donde la ventaja es la gran dispersión y dilución de estas (Sayer, 1988; Ackefors y Enell, 1994).

Por otro lado, para las operaciones basadas en tierra es necesario que se seleccionen los sitios dónde se colocará la piscifactoría en base a la suficiente disponibilidad de agua para que en casos de urgencia (descenso en los niveles de  $O_2$  y/o aumento del nivel de  $NH_4^+$ ) se puedan realizar intercambios de agua en su totalidad, de ser necesario. Con el fin de evitar altas cantidades de residuos nitrogenados y material orgánico en las aguas que llegan a los ríos y el mar provenientes de las actividades piscícolas, es necesario depurar, en lo posible, estos efluentes antes de descargarlos a los medios acuáticos naturales (Ackefors y Enell, 1994).

#### 1.3.4. Patrón de excreción a lo largo del día.

La tasa de excreción de amonio presenta un patrón muy similar a lo largo del día en las especies que se han estudiado hasta ahora (Brett y Zala, 1975; Porter *et al.*, 1987; Kelly *et al.*, 1994; Dosdat *et al.*, 1996). La excreción de amonio se incrementa en las horas siguientes a la alimentación hasta alcanzar un máximo ( $A_{max}$ ) entre 4 y 8 horas postprandial. A partir del  $A_{max}$ , la tasa de excreción de amonio disminuye hasta alcanzar el nivel inicial hacia las últimas horas del día para permanecer sin cambios durante la noche. La tasa de excreción sufre un leve incremento antes del momento de la alimentación del día siguiente relacionado con las horas de luz (Burel *et al.*, 1996; Lyytikäinen y Jobling, 1998; Dosdat *et al.*, 1996). En la trucha de río, trucha arcoiris, rodaballo, lubina, dorada y bacalao, se ha observado que el número de picos de excreción de amonio en el día depende del número de comidas, pues en los peces alimentados una vez al día solo se observa un pico máximo de excreción, mientras que en el caso en que el alimento es repartido en varias raciones al día, se presenta un pico máximo por cada alimentación, relacionado con el metabolismo de digestión (Ramnarine *et al.*, 1987; Echevarría *et al.*, 1993; Dosdat *et al.*, 1996).

Por otro lado, el tiempo en el que aparece el  $A_{max}$  parece estar relacionado con la temperatura y el nivel de alimentación. En el mero se ha observado un retraso en la aparición del pico máximo de excreción postprandial al disminuir la temperatura del agua (Leung *et al.*, 1999).

A este respecto, Dosdat y col. (1996) encontraron para la doradas *Sparus aurata* de 100 grs y mantenidas a 16°C, que el  $A_{max}$  se retrasa, apareciendo entre 8-9 horas después de la alimentación cuando se les administró una ración del 0.45% del alimento. Sobre lo anterior, algunos autores han especificado que la temperatura óptima para el crecimiento de la dorada se encuentra entre 25-26°C, además de estimar que la ración de alimento adecuada para la dorada durante el preengorde (<10 grs) es entre 3.5-8% del PT, y durante el engorde (>15 grs) entre 2.2-4.5% del PT (Calderer y Carmona, 1993; García-Alcázar *et al.*, 1994), por lo que se estima que el nivel deficiente de alimentación utilizada para la dorada por los autores mencionados, fue la causa del retraso en la aparición del  $A_{max}$ .

## 1.4. BREVES ANTECEDENTES DE LOS EFECTOS DE ALGUNOS FACTORES SOBRE LA EXCRECIÓN DE NITRÓGENO

### 1.4.1. Efecto de la sustitución proteica por carbohidratos en la dieta.

El principal factor al que está relacionada la excreción de nitrógeno de los peces, es el nivel de ingesta de proteínas, observando que la excreción de nitrógeno aumenta con el incremento de proteínas dietarias (Rychly, 1980; Cai *et al.*, 1996; Dosdat *et al.*, 1996), reflejando un aumento en el catabolismo proteico con fines energéticos (Gallagher y Matthews; 1987). Hemos visto con anterioridad que hay otros nutrientes que son utilizados por el pez como sustrato para la producción de energía, como los carbohidratos y los lípidos (Jobling, 1994; Shiau, 1997). Se ha observado que la sustitución parcial de las proteínas de la dieta por carbohidratos o grasas llevan a reducir los aportes nitrogenados al medio, y los costes de producción (Kalogeropoulos *et al.*, 1992; García-Gallego *et al.*, 1993; García-Alcázar *et al.*, 1994).

En la tabla I.VIII se presentan las características de los carbohidratos y grasas como sustitutos de las proteínas como fuente energética. Los factores que indican la digestibilidad de los nutrientes (carbohidratos o grasas) dependen del nivel de los mismos en la dieta y de su composición, lo cual varía para cada especie y sus hábitos alimenticios. Hay que tomar en cuenta también el contenido energético que aporta cada uno de estos nutrientes, pues se sabe que a igual peso los lípidos aportan más del doble de energía que los carbohidratos, aunque algunas ventajas de estos últimos son su contribución para aglutinar el pienso, el nivel de proteínas que pueden sustituir es mayor, no necesitan fuertes medidas de almacenaje y que siguen siendo el nutriente más económico.

Dosdat y colaboradores (1996), encontraron que los patrones de excreción de amonio en la lubina (*Dicentrarchus labrax*), el rodaballo (*Scophthalmus maximus*), la dorada (*Sparus aurata*), la trucha de río (*Salmo trutta fario*) y la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), están ligados a la ingesta de nitrógeno a través de la dieta. Junto con la excreción de nitrógeno hay otros factores que son afectados por la relación entre los niveles de proteínas y carbohidratos dietarios, como la eficiencia de utilización proteica, la conversión del alimento, los niveles de urea en el plasma, el crecimiento y la composición corporal (Gallagher y Matthews; 1987), factores que definiremos en el capítulo 3 (metodología).

Rychly (1980), encontró que una dieta rica en energía digerible con un 74% de proteínas y un 9% de carbohidratos, presentó un máximo del 80% del nitrógeno ingerido como excreción de amonio en la trucha, y conforme las proteínas eran sustituidas parcialmente en las dietas por carbohidratos (58% P/26% CH; 32% P/53% CH); el nivel de excreción de amonio disminuyó, incrementando la eficiencia de utilización proteica. Por otro lado, Gallagher y Matthews (1987), encontraron también en la trucha que, cuando la dieta se cambiaba por otra con mayor contenido proteico, la excreción de nitrógeno se incrementaba en un 42%; cambiando casi en proporción al contenido proteico en la dieta. También se observó que la conversión del alimento (cantidad de alimento ingerido en relación a la ganancia de peso) disminuye al aumentar la cantidad de energía proveniente de carbohidratos, lo cual se refleja en el crecimiento (aumento de peso) de las truchas cultivadas con estas dietas.

Gallagher y Matthews (1987) encontraron en anguilas (*Anguilla rostrata*) un incremento en la excreción de amonio, solo cuando la relación entre la proteína y la energía es inferior a un determinado valor óptimo, el cual varía para cada especie (*i.e.* de 140 para la anguila). Además de la relación inversa entre el nivel de proteínas en las dietas y la tasa de excreción de amonio, García-Gallego *et al.*, (1993) encuentran una utilización diferenciada de las fuentes extra-proteicas de energía a la hora de promover un ahorro de la proteína



con fines energéticos, insinuando una mejor disposición de la anguila *Anguilla anguilla*, a utilizar hidratos de carbono en vez de las grasas, para este propósito.

**Tabla I.VIII.** Ventajas de los carbohidratos y las grasas como sustitutos parciales de las proteínas en las dietas comerciales de peces.

PARÁMETRO	CARBOHIDRATOS	GRASAS	CITAS
PECES			
Herbívoros	Tolerados ☺	Tolerados ☺	Jobling (1994).
Carnívoros	Menos tolerados ☹	Tolerados ☺	García-Alcázar y col. (1994).
Digestibilidad	Depende del tipo y tratamiento previo	Alta	Shiau, (1997).
Residuos en Heces	Altos	Bajos	Shiau (1997).
Metabolismo	Presente	Presente	Jobling (1994).
Nivel Pienso	Sin límite ( $\leq 50\%$ )	Limitado ( $\leq 20\%$ )	Kalogeropoulos y col. (1992). García-Alcázar y col. (1994).
Estabilidad Pienso	Almidones contribuyen a aglutinar	No aglutinante Se oxidan	Hardy (1989).
Valor Energético	4.08 Kcal/gr	9.36 kcal/gr	Jobling (1994).
Coste Económico	€	€€	Shiau (1997).

Es notable la importancia que han adquirido los carbohidratos como fuente de energía en las dietas aportadas a los peces en granjas comerciales. Sin embargo, algunos estudios realizados con la tilapia híbrida *Oreochromis niloticus* X *O. aureus* (Shiau y Liang, 1994; Shiau y Chuang, 1995; Shiau, 1997), indican que su eficiencia como fuente energética dependería tanto del nivel de los mismos en la dieta, como de su fuente. Hay algunos tipos de carbohidratos que son utilizados con baja eficiencia, repercutiendo en la ganancia de peso, el contenido de lípidos en el cuerpo y los niveles de plasma en la sangre. Se observa, por ejemplo, que dicha tilapia no utiliza eficientemente los carbohidratos que contienen fibra, independientemente de la fuente, pues altera el funcionamiento de las enzimas encargadas de degradar los carbohidratos (Shiau, 1997). En cambio el almidón arroja buenos resultados (Shiau y Chuang, 1995).

La tasa de excreción de nitrógeno se toma como un indicador de la utilización de las proteínas provenientes de la dieta. Por lo tanto, en algunos estudios se usa para determinar el nivel de proteínas que debe contener la dieta para cada especie. Por ejemplo, para el salmón se han determinado los requerimientos proteicos alrededor del 49% de la dieta (Lied y Braaten, 1984), para la trucha arcoiris del 40% (Cai *et al.*, 1996) y para el pargo japonés del 50-55% (Furuichi y Yone, en Wilson, 1989). En contraste, estudios con la dorada *Sparus aurata* han arrojado datos muy variables, utilizando dietas con un contenido proteico entre el 40 y 55% (Kalogeropoulos *et al.*, 1992; Robaina *et al.*, 1995; Vergara *et al.*, 1996a; Fernández *et al.*, 1998; Lupatsch *et al.*, 1998). Se ha visto en la dorada *Sparus aurata*, que los requerimientos proteicos dependen también de la fase de desarrollo, pues los requerimientos de proteínas son del 55% de la dieta para alevines de 0.8 gramos (Vergara *et al.*, 1996a), según Sabaut y Luquet (1973) 40% para juveniles de una talla entre 3-20 gramos y, según García-Alcázar y col. (1994) entre 45-49% para doradas de 200 gramos.

Existen muy pocos estudios acerca de la sustitución parcial de los nutrientes calorigénicos para reducir la excreción de nitrógeno y reducir los costos proteicos (tanto metabólicos como económicos) para los espáridos. Estos trabajos evalúan este factor a través de algunos parámetros como la eficiencia de conversión del alimento, la eficiencia de utilización y retención de las proteínas, el crecimiento y la composición del pez, entre otros. Robaina y col. (1995) sustituyeron parte de la fuente de proteínas provenientes de la dieta por proteínas de origen vegetal (harina de soja y cacahuete); los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, ya que las doradas alimentadas con proteínas de origen vegetal presentaron una mayor tasa de excreción de nitrógeno que los peces control, y una menor retención de proteínas. Sin embargo, sugieren seguir probando con proteínas de origen vegetal como sustitución de las de origen animal, estas últimas económicamente más costosas.

Otros investigadores han probado el sustituir parcialmente la energía de las proteínas dietarias por lípidos en trabajos con dorada, arrojando resultados interesantes, ya que se mejora la utilización del alimento, el crecimiento del pez y la retención de proteínas, aunque a costa de una mayor acumulación de grasa corporal (Kalogeropoulos *et al.*, 1992). Algunas experiencias de engorde comercial de dorada realizadas en España con tallas de 30 gr y 200 gr, determinaron una mejora en el crecimiento y la conversión del alimento cuando se les alimenta con dietas en las cuales se ha sustituido parcialmente la fuente proteica de energía por lípidos. Para los peces de 30 gr (preengorde) se obtienen buenos resultados solo con la adición de *betaina*, lo cual mejora la eficiencia de retención proteica y la digestión de las grasas (García-Alcázar *et al.*, 1994). La *betaina* es una hormona regularmente utilizada en las dietas utilizadas con salmónidos para la regulación del equilibrio osmótico.

Para la mayoría de las especies de teleósteos estudiados, del nitrógeno total excretado entre el 60-80% está en forma de amonio (Rychly, 1980; Jobling, 1981a; Kelly *et al.*, 1994). Debido a que el alimento natural de los peces carnívoros contiene una gran cantidad de proteínas, es evidente que la fracción de amonio excretado, en relación a la excreción de nitrógeno total, puede ser particularmente alta. Por lo anterior; se hace patente la necesidad de ajustar los requerimientos proteicos de los peces cultivados comercialmente y así mejorar la utilización de los piensos. En nuestro trabajo buscamos optimizar la relación de las fuentes energéticas entre las de origen proteico y de carbohidratos, reduciendo las pérdidas de nitrógeno no fecal, es decir, el amonio.

#### 1.4.2. Efecto de la temperatura.

Son escasos los estudios que existen acerca de la influencia que tiene la temperatura sobre la excreción de amonio, además de restringirse a un número reducido de especies de peces (Jobling, 1994; Lyytikäinen y Jobling, 1998). En el caso de la dorada *Sparus aurata*, hasta 1989 no había estudios sobre este tema, aunque sí del efecto que presenta la temperatura sobre la supervivencia, el crecimiento y la selectividad de tallas dentro de los cultivos (Tandler *et al.*, 1989).

La temperatura ejerce un control sobre el metabolismo de los peces, lo cual provoca un efecto sobre la alimentación y la utilización de las proteínas provenientes de las dietas aportadas (Bower y Bidwell, 1978; Wajsbrodt *et al.*, 1991; Kelly *et al.*, 1994; Person-Le Ruyet *et al.*, 1997a). En la mayoría de los peces estudiados se observa un incremento en la excreción de amonio al aumentar la temperatura dentro del medio de cultivo (Jobling, 1981a; Burel *et al.*, 1996; Lyytikäinen y Jobling, 1998; Leung *et al.*, 1999). En el medio natural también se manifiesta la relación existente entre la excreción de amonio y la temperatura, pues las mayores descargas de amonio se presentan durante las épocas más cálidas del año (diversos autores en Tátrai, 1986 y en Kelly *et al.*, 1994). La excreción de

urea (diaria y por hora) presenta el mismo comportamiento que el amonio, estando también afectada por la temperatura del medio (Brett y Zala, 1975; Burel *et al.*, 1996).

Se han realizado estudios sobre el efecto que tiene la temperatura a lo largo del año sobre el aprovechamiento del alimento y el desarrollo de algunos espáridos en cultivos comerciales. En el caso del pargo japonés *Chrysophrys major* se observó un pobre crecimiento y un incremento de las tasas de mortalidad durante los meses de verano, cuando la temperatura del agua alcanzaba hasta los 29°C, muy cercana a la temperatura letal (32°C) para esta especie (Woo y Fung, 1980). Durante el invierno el crecimiento del pargo japonés, es menor (Woo, 1990). Los efectos durante el verano pueden ser agravados en zonas de poca circulación, pues el amonio tiene la propiedad de que puede acumularse, con sus consecuencias sobre el medio natural (Tandler *et al.*, 1989).

Además de ejercer un control sobre el metabolismo de las proteínas, la temperatura afecta también sobre el crecimiento de los peces y el nivel de los aportes de nitrógeno al medio acuático. Por ejemplo, la temperatura mínima de crecimiento (crecimiento nulo) de la dorada *Sparus aurata* es de 12°C, mientras que el crecimiento óptimo se presenta entre 25 y 26°C (Freddi *et al.*, 1984; en Barnabé, 1991). Por otro lado, determina el nivel de toxicidad que tiene el amonio en su forma no ionizada (NH<sub>3</sub>-N) en el medio de cultivo, sobre los mismos peces, y el medio receptor de estos residuos, sobre los organismos que viven en él (Mommensen y Walsh, 1992; Kelly *et al.*, 1994). En base a lo anterior, en el presente trabajo evaluaremos como afecta la temperatura sobre la excreción de amonio y la utilización de las proteínas dietarias, con el fin de reducir las tasas de excreción de amonio y los riesgos que presenta sobre el medio de cultivo de la dorada *Sparus aurata* y el cuerpo de agua receptor de estos residuos; además de obtener cual de las temperaturas utilizadas en el presente trabajo (15°C ó 25°C), es a la que la dorada aprovecha mejor las proteínas para crecimiento.

#### 1.4.3. Efecto del nivel de alimentación.

Sabemos que es importante alimentar a los peces hasta cubrir sus demandas y, dentro de lo posible, hasta que se sacien, sin generar residuos del alimento que no se ingiera; sin embargo es difícil determinar cuando hemos de parar de alimentar. Parte del alimento no ingerido es desintegrado o arrastrado fuera del cultivo por las corrientes y esta energía que debería ser aprovechada por el pez, se pierde. Los factores a tomar en cuenta para calcular la cantidad de alimento que se debe aportar a los peces son el tamaño del organismo, la temperatura del agua y el valor energético del alimento, además de los requerimientos energéticos de la especie (Smith, 1989). Pero a pesar de la importancia que tiene el tamaño de la ración en cada una de las etapas de desarrollo de los peces, estas investigaciones siguen siendo escasas.

Existen tablas de alimentación desde los años 30 en las que se presentan las raciones de alimento a aportar para mantener el crecimiento de las especies comerciales en cada etapa del cultivo comercial (Tátrai y Penczak, 1985). Como una buena parte del nitrógeno consumido en el alimento es excretado en forma de residuos solubles, principalmente como amonio, urea y ácido úrico (Tátrai y Penczak, 1985; Tátrai, 1986; Jobling, 1994), es importante adecuar el tamaño de la ración con el fin de minimizar la liberación de estos residuos nitrogenados. Con el objeto de prevenir niveles de amonio muy altos durante el transporte de peces, Leung y col. (1999) recomiendan suspender la alimentación de los organismos cuando menos 12 horas antes de llevarse a cabo el transporte, pues los niveles de amonio en el medio son acumulativos y se incrementan de acuerdo con la ración de alimento aportada.

Las tasas de excreción de amonio se incrementaron en el lenguado *Pleuronectes platessa*, conforme al aumento en el nivel de alimentación (Jobling, 1981a). De igual forma, Tátrai y Penczak (1985), encontraron en el cultivo de alevines de la carpa *Abramis brama*, incrementándose un 5% la generación de residuos nitrogenados debido al aumento en la ración de alimento. Por otro lado, Leung y col. (1999) citan algunos estudios (i.e. Paulson, 1980; Cui y Wooton, 1988; Yager y Sommerfelt, 1993) en los que el nivel de alimentación fue el factor principal que afectó la excreción de amonio, tanto en la trucha arcoiris como la trucha de río, presentándose mayores tasas de excreción en los peces alimentados con niveles más altos de comida; incluso, el efecto del nivel de alimentación supero los efectos debidos a la talla del pez y la temperatura.

En el bacalao del Atlántico cultivado a 14°C, sin embargo, se ha encontrado que cuando el tamaño de la ración del alimento se incrementó de 1.0 a 1.5% del peso total del pez, la tasa de excreción de amonio no sufrió cambios, aunque la retención de nitrógeno se incrementó (Ramnarine *et al.*, 1987).

#### 1.4.4. Efecto combinado de la temperatura y el nivel de alimentación.

Existen algunos trabajos sobre el efecto combinado que presentan el nivel de alimentación (tamaño de la ración), la frecuencia de alimentación, la temperatura y el peso corporal sobre la excreción de amonio en algunas especies de peces (Jobling, 1981a; Tátrai y Penczak, 1985; Tátrai, 1986; Ramnarine *et al.*, 1987; Leung *et al.*, 1999). Pero a pesar de la importancia que tienen estos parámetros en cada una de las etapas de desarrollo de los peces, el número de investigaciones sobre estos temas, sigue siendo bajo.

Por ejemplo, en el mero *Epinephelus areolatus* y otro pez de manglar (*Lutjanus argentimaculatus*), Leung y col. (1999), encontraron un efecto combinado de la temperatura y el tamaño de la ración sobre la excreción de amonio (explicando entre el 61 y 83% de la variabilidad). La excreción de amonio se incrementó linealmente con el aumento de la ración en las dos especies; sin ser significativo el efecto de la talla del pez.

Por otro lado, Tátrai y Penczak (1985) encontraron en alevines de la carpa europea *Abramis brama* cultivados a 15°C y 20°C, que la producción de residuos nitrogenados se incrementa al aumentar la ración del alimento de un 10% a un 15% del peso total. Sin embargo, este efecto se presenta solamente cuando la ración proteica está por encima del nivel óptimo (Tátrai y Penczak, 1985; Tátrai, 1986).

En vista de que en muchas de las especies comerciales la temperatura y la ración de proteínas aportada en la dieta influyen sobre la excreción de nitrógeno, afectan por tanto sobre el aprovechamiento del alimento y las proteínas, es patente la importancia de la investigación sobre el tamaño de la ración del alimento, soportando uno de los objetivos principales el presente trabajo.

#### 1.4.5. Efecto del cromo.

El conocimiento de la digestibilidad de los nutrientes de la dieta (proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales) es esencial para el estudio de la energética en los peces y para la evaluación de diferentes alimentos. Durante el tiempo en que el alimento está en el tracto digestivo, los nutrientes son degradados por varias enzimas (digeridos) a formas que pueden ser absorbidas a través de la pared celular para entrar en el sistema sanguíneo. El uso del término *digestión* no debe ser confundido con el paso final del proceso del tránsito del alimento a lo largo del intestino y que acaba en evacuación (Talbot, 1985).

Los coeficientes de digestibilidad para varios nutrientes dietarios y la energía bruta son determinados tanto por medidas cuantitativas directas como indirectas, a partir de las diferencias entre los nutrientes ingeridos y los evacuados (Cho y Kaushik, 1985; Talbot, 1985).

Las heces son una mezcla de alimento no digerido y residuos no absorbidos de origen corporal; estos últimos son restos de células de la mucosa intestinal, enzimas digestivas y otras secreciones liberadas dentro del tracto digestivo por el animal. El calor de combustión de estos residuos representa una pérdida de energía debida a los procesos de digestión, los cuales no se derivan del alimento. Esta energía perdida se denomina como *energía fecal de origen metabólico* (FmE) y es influenciada por las características del alimento y el nivel de ingesta de alimento (Maynard y Loosli, 1969; Cho y Kaushik, 1985). Para un nivel normal de alimentación, la proporción de FmE en las heces es despreciable, por lo que no es necesario calcular la digestibilidad *verdadera* o *corregida* mediante la diferencia entre la energía fecal y la FmE, por ello se habla de *Coefficiente de Digestibilidad Aparente*, (ADC). Antes de la formulación de dietas es muy importante que este coeficiente sea calculado.

Los métodos directos envuelven las medidas de la cantidad de nutrientes ingeridos y la cantidad correspondiente de nutrientes defecados. Las medidas directas de digestibilidad presentan dificultades asociadas con la cuantificación del consumo de alimento y la colecta de heces. Debido a la dificultad de medir la cantidad de alimento realmente ingerido y la colección de heces evacuadas (Maynard y Loosli, 1969; Talbot, 1985); algunos métodos directos han sido descritos por [Smith \(1989\)](#).

La ventaja de los métodos indirectos es que la digestibilidad del nutriente puede determinarse sin la necesidad de cuantificar la ingesta de alimento o la salida de heces; además los peces pueden ser mantenidos en condiciones normales de cultivo y permitiendo que se alimenten voluntariamente. Es por lo anterior que la mayoría de los estudios de digestibilidad en peces se han realizado por métodos indirectos, los cuales se basan en un indicador o sustancia de referencia que se añade en el alimento. Los indicadores pueden ser internos o externos dependiendo de si la sustancia es añadida a la dieta o si es un componente integral de la dieta de ocurrencia natural. Idealmente, el indicador no debe ser ni digerido ni absorbido a través de las paredes del intestino (debe ser inerte) y ser evacuados a la misma tasa que el demás material contenido en el intestino. Además, las sustancias indicadoras deben ser fácilmente analizadas por métodos químicos, no alterar la palatabilidad de las dietas probadas y deben ser, preferiblemente, indicadores internos (Talbot, 1985).

Uno de los indicadores externos más utilizados en los experimentos de digestibilidad es el óxido crómico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ). Con el objetivo de resolver deficiencias percibidas en la utilización del  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , este ha sido sustituido más recientemente por otros marcadores como el silice (Si), las cenizas resistentes a hidrólisis y el  $^{35}\text{P}$  en forma de molibdato de amonio, entre otros (Maynard y Loosli, 1969; Smith, 1989). Por ejemplo [DeSilva y Perera \(1984\)](#) reportaron un cierto rechazo selectivo del óxido crómico por la tilapia, mientras que Bowen (1978, en Smith, 1989) encontró que la tilapia (*T. mossambica*) fue capaz de rechazar selectivamente el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  que provenía de una dieta detritica. Pero hay otros motivos que ponen en duda la utilización del cromo como marcador en los estudios de digestibilidad en los peces.

El cromo se presenta tanto en el medio acuático como en los alimentos de los peces. El cromo presente en el agua proviene de las actividades antropogénicas (tenerías, chapistas, cromadoras y textiles, entre otras) que se llevan a cabo en las cercanías, además de los escurrimientos pluviales (U. S. EPA, 1999). El cromo se presenta en el agua como  $\text{Cr}^{+3}$  y  $\text{Cr}^{+6}$ . El  $\text{Cr}^{+6}$  es reducido rápidamente a  $\text{Cr}^{+3}$  en la materia orgánica. En los alimentos,

comúnmente el contenido de cromo es entre 20 y 590 µg/kg. Los alimentos de los peces carnívoros con mayor cantidad de cromo son los moluscos y los crustáceos. En los peces el cromo se concentra ligeramente, por ejemplo, la trucha presenta un factor de bioconcentración de 1, mientras que los moluscos tienen un factor que varía entre 86 y 192 (EPA, 1985; en U. S. EPA, 1999). Según [Rand y Petrocelli \(1985\)](#), el factor de bioconcentración (BCF) se define como la proporción entre la concentración promedio, del compuesto químico probado, medida en el tejido y la concentración promedio medida en el agua a la cual se han expuesto los organismos.

Mientras que el Cr<sup>+6</sup> es un cancerígeno para los humanos (U. S. EPA, 1999), para el Cr<sup>+3</sup> aún no se ha comprobado que lo sea, por el contrario, es considerado como un mineral esencial que está relacionado con el metabolismo de los lípidos y la glucosa (Maher, 1999). Se ha pensado que la toxicidad del Cr<sup>+6</sup> dentro de la célula presenta daños a los componentes celulares durante este proceso a través de la generación de radicales libres (U. S. EPA, 1999).

El Cr<sup>+3</sup> es un elemento traza esencial requerido para que el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos se desarrolle de una manera normal en los mamíferos como el hombre, la rata y el cerdo (Anderson y Polansky, 1995). El Cr<sup>+3</sup> forma complejos con una variedad de ácidos nucleicos y proteínas; posteriormente es eliminado del cuerpo como un complejo Cr<sup>+3</sup>-Glutación a través de las heces (U. S. EPA, 1999). El *Committee on Dietary Allowances, Food and Nutrition Board of the National Research Council*, recomienda que la ingesta diaria de cromo para el humano adulto sea entre 50 a 200 µg/día; actualmente se calcula que la ingesta típica es de 100 µg/día, aproximadamente (U. S. EPA, 1985; y NRC, 1989; en U. S. EPA, 1999). En el hombre, una dieta baja en Cr puede desencadenar rápidamente una hiperglucemia (diabetes), reduciendo la tolerancia a la glucosa, elevar la circulación de la insulina y síntomas hipoglucémicos. Se conoce que en los humanos el tracto gastrointestinal absorbe entre el 0.5% y el 2% del Cr<sup>+3</sup> ingerido (U. S. EPA, 1999). El Cr<sup>+6</sup> parece ser mejor absorbido, aunque rápidamente es convertido a Cr<sup>+3</sup> en el tracto digestivo. (Anderson, 1986; en U. S. EPA, 1999).

El mecanismo preciso de absorción del Cr no ha sido determinado, aunque debido a que la albúmina y la transferrina del plasma se asocian con el incremento del nivel de Cr y su transporte, la absorción de este debe realizarse en el intestino delgado. Se ha observado en la rata, que la absorción de Cr declina con la edad, lo cual puede explicar el progresivo decremento de Cr en los tejidos de los humanos asociados con la edad después de los 20 años, que es cuando se encuentran los niveles más altos de cromo en el hígado y la piel del humano (Anderson y Polansky, 1995; U. S. EPA, 1999). [Anderson y Polansky \(1995\)](#) encontraron que el Cr es absorbido y después depositado principalmente en el hígado, la piel y el páncreas de la rata, sin que la retención haya sido alterada por la variación de los niveles de algunos nutrientes aportados vía oral (glucosa, sacarosa y ácido nicotínico).

En cuanto a los peces, [Hertz et al. \(1989\)](#) han encontrado que el cromo participa también en el metabolismo de la glucosa, aunque las vías de acción son poco claras. El cloruro de cromo mejora la tolerancia a la glucosa, incrementa la tasa de lipogénesis y afecta la acumulación de glucógeno en presencia de insulina; por lo cual se considera un cofactor de la actividad de la insulina y parte de un factor orgánico de tolerancia a la glucosa, como se ha mencionado para el hombre. En los resultados de [Hertz y col. \(1989\)](#), con la carpa común (*Cyprinus carpio*), la inclusión de cromo en la dieta mejoró la utilización de la glucosa y las proteínas. Por otro lado, el cromo modula las tasas de la gluconeogénesis (formación de glucosa a partir de proteínas del alimento), inhibiendo ciertas enzimas de este proceso, tales como la Fosfoenolpiruvato Carboxiquinasa (PEPCK). Dichos resultados indican que el cromo añadido a la dieta, de alguna manera fue absorbido en el intestino y participa en el metabolismo de las proteínas y la glucosa en la carpa, beneficiando la

utilización de las proteínas del alimento para el crecimiento en vez de la obtención de energía por medio de la gluconeogénesis.

Según Tacon y Rodrigues (1984), la inclusión de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en la dieta, por encima del 1%, incrementó la digestibilidad de los nutrientes en la trucha arcoiris *Salmo gairdneri*, sin embargo, en los estudios de digestibilidad de esta especie se pueden utilizar en las dietas niveles de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  menores al 1% de la misma.

En trabajos realizados con la tilapia híbrida *Oreochromis niloticus* X *O. aureus* se ha encontrado que la inclusión de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en la dieta (en la cual la fuente de carbohidratos fue la glucosa) incrementó la ganancia de peso, la retención de la energía y la acumulación de glucógeno en el hígado (Shiau y Lin, 1993). Shiau encontró iguales resultados en otro estudio (Shiau y Liang, 1995), en el que además, la inclusión de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  mejoraba la utilización de la glucosa y la eficiencia de utilización, tanto de las proteínas como del alimento. Además, obtuvieron mejores resultados cuando la fuente de carbohidratos en las dietas era el almidón. Sin embargo, estudios de otros autores han demostrado que la inclusión de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en las dietas no afectan la utilización de la glucosa o la retención de cromo por el bagre *Ictalurus punctatus* (Ng y Wilson, 1997).

Para el caso de la dorada *Sparus aurata*, Fernández y colaboradores (1999), al medir la utilización del alimento, la digestibilidad de los nutrientes y otros parámetros, encontraron que la inclusión en las dietas del  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  no presentó efectos sobre la digestibilidad del nitrógeno, el carbón, o materia seca. Tampoco afectó sobre la tasa específica de crecimiento, la eficiencia de utilización proteica o la retención de proteínas, en juveniles alimentados con una dieta en la que la fuente de carbohidratos fue el almidón gelatinizado. De esta manera, la actividad de algunas enzimas envueltas en el metabolismo de los carbohidratos no fue afectada por el contenido de cromo en el alimento. Por el contrario, la digestibilidad del calcio y el fósforo fueron afectadas, encontrando una variabilidad dependiente del nivel de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  que contenía la dieta. Las menores digestibilidades de Ca y P se encontraron para los peces alimentados con una inclusión del 0.5% de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en la dieta (5 gr  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ /kg dieta). En este mismo trabajo se encontró que la concentración de cromo en el pez fue mayor para aquellos alimentados con las dietas que contuvieron 0.5% y 1.0% de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ .

En general hay escasez de información de los efectos fisiológicos del cromo en el pez, así como su papel dentro del metabolismo de carbohidratos en los peces, y la información que existe es a veces contradictoria, inclusive cuando se trata de una misma especie, como se ha descrito arriba. En algunos casos se ha observado un mejoramiento en la utilización de la glucosa por la inclusión del  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , lo cual presenta implicaciones importantes sobre la nutrición en la tilapia (Shiau y Liang, 1995), además de que en algunos peces dulceacuícolas se ha observado que mejora la utilización de las proteínas (Hertz *et al.*, 1989). Esto último puede repercutir en una reducción de la excreción de residuos nitrogenados, aunque este aspecto merece más investigación. En cuanto a los peces marinos, en este caso la dorada, es necesario generar mayor información que lleve a clarificar sobre si la inclusión de cromo en las dietas presenta o no un efecto sobre el metabolismo proteico y de los carbohidratos, pues es muy importante conocer si este aspecto puede repercutir en los resultados de digestibilidad de los nutrientes o la utilización proteica (excreción y retención de las proteínas dietarias, llevando a un ahorro proteico), como lo explican algunos trabajos.

Si en la dorada, como en algunos peces, la inclusión del óxido de cromo en las dietas repercute sobre el pez mejorando el metabolismo de los carbohidratos y de las proteínas; este factor se reflejará en la disminución de las tasas de excreción de amonio. Generar información acerca de este tema para la dorada es uno de los objetivos particulares del presente estudio.