

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA



MEMORIA DE MÁSTER

**EL BOCINEGRO ("PAGRUS PAGRUS") COMO ESPECIE
ALTERNATIVA PARA SU PRODUCCIÓN EN ACUICULTURA :
ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXCRECIÓN DE AMONIO TRAS
LA ALIMENTACIÓN CON DIFERENTES PIENSOS
EXPERIMENTALES**

C. GARCÍA DÍEZ

Las Palmas de Gran Canaria,

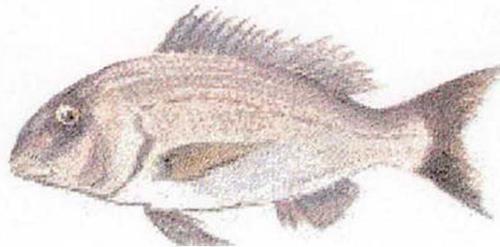
MASTER DE MEDIO AMBIENTE LITORAL Y MARINO

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Y

CENTRO DE ESTUDIOS MARÍTIMOS DEL ATLÁNTICO

**EL BOCINEGRO (*Pagrus pagrus*) COMO ESPECIE ALTERNATIVA
PARA SU PRODUCCIÓN EN ACUICULTURA: ESTUDIO COMPARATIVO DE
LA EXCRECIÓN DE AMONIO TRAS LA ALIMENTACIÓN CON DIFERENTES
PIENSOS EXPERIMENTALES**



CRISTINA GARCÍA DÍEZ

OCTUBRE DE 2002

Trabajo realizado en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), España, bajo la dirección de Dra. Marisol Izquierdo (Catedrática de Biología Animal de la ULPGC) y Dra. Lidia Robaina (Investigadora contratada del ICCM).

Y presentado como requisito parcial para la obtención del Título de Máster en Medio Ambiente Litoral y Marino, otorgado por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC) y el Centro de Estudios Marítimos del Atlántico (CEMA).

Directora

Directora

Fdo.: Dra.

Fdo.: Dra.

Autor

Fdo.:

Las Palmas de Gran Canaria, Octubre de 2002.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a mis padres y a mi hermana por apoyarme y ayudarme a realizar este Master. Su cariño, apoyo y dedicación han sido muy importantes para mí y para que esta tesis haya llegado a completarse.

Mis agradecimientos a las Dras. Marisol Izquierdo López y Lidia E. Robaina Robaina, Catedrática del Departamento de Biología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria e Investigadora del Instituto Canario de Ciencias Marinas, tutoras de esta Tesis de Master, por la paciencia que me han brindado y las continuas orientaciones que me han prestado, por la confianza que depositaron en mí al dejarme realizar en este centro mis prácticas y tesina, y por enseñarme todo lo que he aprendido hasta ahora en el campo de la acuicultura.

A Tatiana Kalinowski por ayudarme y soportarme con mis continuas dudas y preguntas, y sobre todo por hacerme más fácil este trabajo al facilitarme mucha de la información aquí presente.

Quisiera dar muchas gracias a todo el personal del GIA y sobre todo a Eriko, Pipo, Manolo, Eduardo, y Dominique.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 La acuicultura como medio productivo.....	1
1.2 Desarrollo de la acuicultura en los últimos años.....	3
1.3 Papel de la acuicultura en el medio ambiente.....	4
1.4 Importancia de la nutrición en acuicultura sobre la excreción al medio....	7
1.5 El amonio como factor limitante en acuicultura.....	9
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
3.1 Condiciones experimentales de cultivo y toma de muestras.....	12
3.1.1 Sistema experimental.....	12
3.1.2 Muestreos.....	14
3.1.3 Alimentación y parámetros del agua.....	15
3.2 Dietas experimentales.....	16
3.2.1 Formulación.....	16
3.2.2 Elaboración.....	18
3.3 Parámetros biológicos utilizados.....	19
3.3.1 Crecimiento.....	19
3.3.2 Índice de conversión (IC).....	19
3.3.3 Tasa de crecimiento específica (SGR).....	19
3.4 Métodos analíticos de composición.....	20
3.4.1 Determinación de amonio en agua de mar.....	20
3.4.2 Análisis de pienso y muestras de peces.....	23
3.5 Tratamientos estadísticos.....	24

4. RESULTADOS.....	26
4.1 Parámetros de cultivo.....	26
4.2 Análisis de las dietas.....	26
4.3 Crecimiento y utilización del alimento.....	27
4.4 Composición bioquímica de los peces.....	28
4.5 Excreción de amonio.....	29
4.5.1 Excreción total.....	30
4.5.2 Curvas d excreción.....	35
4.6 Aproximación biológica a la producción en jaulas.....	37
5. DISCUSIÓN.....	39
6. CONCLUSIONES.....	46
7. BIBLIOGRAFÍA.....	47

“La sobrepesca y el agotamiento de las poblaciones es ya una realidad tangible, y ha comenzado a reconocerse la necesidad de crear nuevas poblaciones o acrecentar las ya existentes”(Pillay, 1997)

INTRODUCCION

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura engloba todas las actividades que tienen por objeto la producción, crecimiento (desarrollo) y comercialización de organismos acuáticos, animales o vegetales, de aguas dulces, salobres o saladas.

El fin fundamental de los acuicultivos es la producción de materia viva en un medio acuático. Efectivamente, la acuicultura consiste en la manipulación de biotopos acuáticos naturales o artificiales para la producción de especies útiles al hombre y por tanto incluye todas las actividades de crianza o cultivo de organismos que viven en dichos biotopos (Barnabé, 1991).

La acuicultura marina animal es una actividad dirigida a producir y engordar organismos en el agua. Las técnicas necesarias para llevarla a cabo están llegando a una etapa que colocará la acuicultura marina a la par de la agricultura y de la ganadería, como actividad tendente a racionalizar la explotación de los recursos acuáticos y proporcionar alimento y trabajo. El mar experimenta el impacto del desarrollo industrial, agrícola y urbano, que pone en peligro la producción y el uso recreativo de sus aguas (Coll, 1982).

1.1 La acuicultura como medio productivo

Algas, moluscos, crustáceos y peces, son los cuatro grandes grupos objeto de la acuicultura. Estas especies son objeto de gran demanda comercial y, por ello, han dado lugar a numerosas investigaciones que han conducido a la implantación final de su cultivo. Algunos de los ejemplos de acuicultura marina

animal ilustran el interés de algunas naciones por especies concretas. En Noruega funcionan instalaciones para la cría comercial de salmón del Atlántico. El Reino Unido fomenta el cultivo, sobre todo, de peces planos (lenguados, rodaballos y platijas). Francia produce grandes cantidades de ostras. Japón se caracteriza por una gran variedad de cultivos: pez limón, dorada, ostras, langostinos, etc. España produce grandes cantidades de mejillón. Filipinas engorda el pez herbívoro conocido como el salmón blanco. Israel cultiva el mágil y la dorada, etc. El cultivo de algunas especies no se inicia, puesto que las existencias son aún abundantes y la producción cultivada no podrá competir con la pesca (Coll, 1982).

Las finalidades socioeconómicas de la acuicultura según Coll (1982) pueden resumirse así:

- Proporcionar trabajo y producir cantidades abundantes de alimento para atender las necesidades presentes y futuras de la humanidad.
- Continuar proporcionando los bienes de uso y consumo que solicitan los países desarrollados.
- Ayudar a contrarrestar los efectos de la contaminación y evitar la destrucción irreversible de los recursos acuáticos.

La razón de ser de la acuicultura no se limita a las meras ventajas socioeconómicas y de mercado. Existen además principios científicos que inclinan de manera decisiva la balanza a favor del cultivo de peces y mariscos. Se trata de una forma relativamente eficiente de producir proteína animal y, cuando se adoptan las especies y las técnicas adecuadas, puede compararse de manera muy ventajosa con la avicultura, la porcicultura y la cría de bovinos en cuanto a los

aspectos económicos de la producción. Los animales poiquiloterms (de sangre fría), en especial los peces, tienen requerimientos energéticos relativamente bajos, si se exceptúan el metabolismo y el mantenimiento de las funciones corporales, ya *que utilizan poca energía para el mantenimiento de la temperatura corporal y para la locomoción ordinaria*. Dado que la densidad de su cuerpo es casi la misma que la del agua en que habitan, el consumo de energía para la sustentación y el desplazamiento es mínimo.

1.2 Desarrollo de la acuicultura en los últimos años

En 1.999 la producción mundial procedente de la acuicultura ascendió a unos 25 millones de Tm., esperándose que para el 2.010 alcance los 29 millones de Tm. Al sumar el total de capturas pesqueras, 100 millones de Tm., y el total de *producciones acuícolas, se observa que la acuicultura marina ya supone el 20 % del total de peces, moluscos y crustáceos consumidos por el hombre, incrementándose paulatinamente dicho porcentaje año tras año*. En España, el sector de la acuicultura genera unos ingresos de 9.000 millones de Ptas. anuales, existiendo unas 55 empresas, las cuales emplean cerca de 4.000 personas en ellas. *En los últimos 20 años se ha producido un verdadero auge de la acuicultura en España, pudiéndose considerar hoy en día como un país puntero en el sector acuícola, tanto por el volumen de su producción, como por los ingresos económicos que genera y por la tecnología que en ella se emplea (Urea, 2001).*

Este desarrollo, según Urea (2001), se ha producido debido a una serie de *circunstancias entre las que se pueden destacar las siguientes:*

- A nivel mundial existe una tendencia a aumentar el consumo de pescado, que actualmente es de 14 kg de pescado/persona/año, siendo el mayor consumidor Japón con 85 kg/año. España ocupa el tercer puesto en cuanto al consumo de pescado por persona, 45 kg/habitante.
- La producción pesquera en España está en torno a los 1,3 millones de Tm, pero el consumo total asciende a 1,9 millones de Tm, por lo que ese déficit debe ser cubierto (o por importación del pescado del extranjero, o por la acuicultura).
- La excesiva presión pesquera ha provocado que algunas especies de alta cotización económica (rodaballos, lenguados, lubinas, doradas, etc.) sean ahora más escasas en el medio natural.

1.3 Papel de la acuicultura en el medio ambiente

A raíz de la Revolución Industrial se empezó a verter de forma masiva, descontrolada y derrochadora sobre las aguas de ríos, lagos y océanos, viéndose seriamente afectadas por emisiones de aguas de uso urbano y residuos industriales, junto con los efectos de la agricultura intensiva, causando efectos prácticamente irreversibles sobre nuestras aguas.

Pero al comparar las extensas superficies contaminadas, y sobre todo, la producción constante de vertidos y contaminantes tóxicos que generan otros sectores como la agricultura, ganadería y demás industrias (petroleras, térmicas, nucleares, papeleras, etc.), con lo que hasta la fecha produce la acuicultura,

vemos como el porcentaje de esta última es mucho menor. Aunque esto no significa que la acuicultura no contamine, porque cualquier actividad realizada por la mano del hombre afecta de forma directa o indirecta sobre el medio ambiente. Será la buena o mala gestión de la actividad la que determine el grado de contaminación que causará esa acción.

Hay zonas en las que se puede ver claramente que la forma de gestionar no ha sido la adecuada como, por ejemplo, en el Norte de Europa donde debido a operaciones intensivas de cultivo en jaulas tienen problemas relacionados con la descarga de nutrientes en dilución, principalmente fósforo y nitrógeno, y con la emisión de materia orgánica en forma particulada. En otros casos, como las prácticas de cultivo de langostino en el Sudeste Asiático y en América Latina, los efectos negativos se derivan de la deforestación de zonas costeras para construcción de estanques, y el empleo abusivo de antibióticos.

De forma general las descargas de nitrógeno al medio están dominadas por las actividades agrícolas, seguidas por la deposición atmosférica sobre la superficie marina y emisarios de aguas residuales urbanas.

Como vemos, la contribución relativa al impacto negativo potencial sobre el medio ambiente de las actividades relacionadas con la acuicultura es mínima cuando la comparamos con el resto de las actividades humanas (0,92% del nitrógeno y 3,65% del fósforo).

Descargas de nitrógeno y fósforo procedentes de diversas actividades humanas en países del Norte de Europa en áreas ribereñas del mar Báltico durante el año 1989

Fuente/Actividad	Nitrógeno (toneladas)	Fósforo (toneladas)
Agricultura	607.800	12.800
Bosques y silvicultura	87.600	3.600
Emisarios urbanos	214.600	33.700
Industrias	32.900	6.600
Acuicultura	14.200	2.400
Deposición atmosférica sobre el mar	448.000	6.700
Fijación de nitrógeno	134.000	-
TOTAL	1.539.100	65.800

Fig. 1. _ Enell y Ackefores, 1992

El hecho de que la acuicultura moderna haya experimentado su principal desarrollo en la segunda mitad de este siglo, cuando la conciencia sobre la degradación medioambiental ha alcanzado niveles antes desconocidos, ha propiciado sin duda el que estos aspectos ocupen una atención especial en las implicaciones del desarrollo de este nuevo sector de producción de alimentos, desequilibrando quizás la percepción que al respecto se posee sobre otras actividades mucho más antiguas, como la ganadería o la agricultura (Vergara y Molina, 1997).

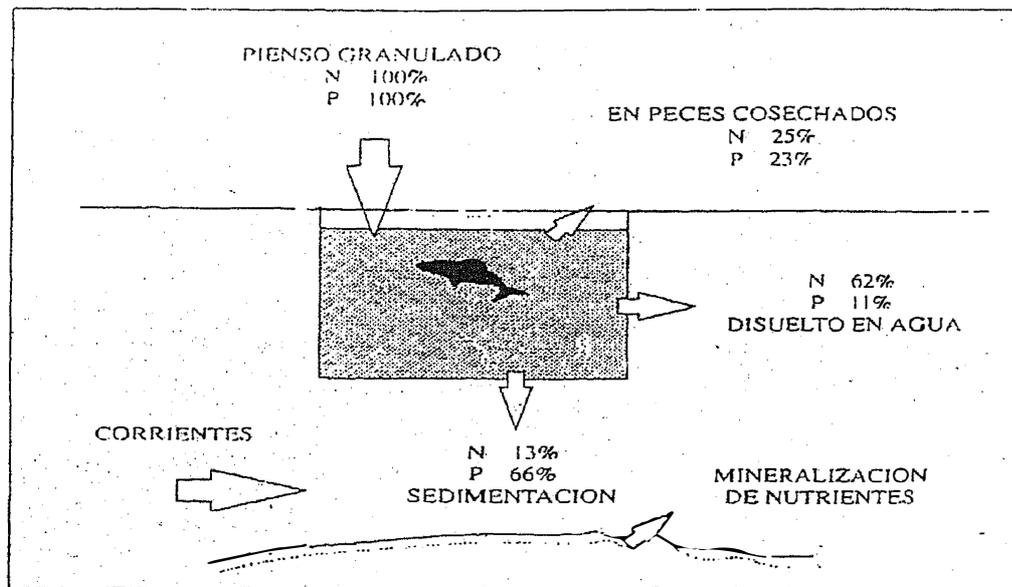
1.4 Importancia de la nutrición en acuicultura sobre las excreciones al medio

Las principales fuentes de impacto que genera la acuicultura provienen de forma directa o indirecta del alimento que se les da a los peces. Por lo que las descargas liberadas al medio son fundamentalmente tres:

- a) Alimento suministrado y no ingerido por los peces.
- b) Productos excretados al medio tras la ingestión y metabolismo del alimento.
- c) Antibióticos empleados.

Una proporción variable del alimento suministrado a los organismos cultivados (1-30%) no es ingerido, bien porque se sobrealimenta, bien porque el sistema o su mala gestión no optimizan su ingestión. Del alimento ingerido, la fracción no digerida es eliminada por los animales acuáticos cultivados en forma de heces sólidas, mientras que aquellos nutrientes absorbidos en exceso son excretados junto a los productos finales del catabolismo de las proteínas en forma de amonio (a través de las branquias) y urea disueltos, principalmente por difusión pasiva.

En general, y dependiendo de la calidad del pienso, alrededor de $\frac{1}{4}$ de los nutrientes aportados a través de la alimentación, son incorporados al peso corporal del pez, mientras que $\frac{3}{4}$ partes serán vertidas de una u otra forma al medio (Fig. 2).



Fuente: Folké & Kaustsky, 1992..

Fig. 2._ Excreción de nitrógeno y fósforo liberadas al medio acuático.

El uso de productos químicos varía enormemente con las especies, intensidad de cultivo y zona de ubicación de las granjas. Los más usados son los agentes terapéuticos (formol), contra ectoparásitos y hongos, y gran variedad de antibióticos, a veces en grandes cantidades. También se usan productos químicos para la limpieza y desinfección de estanques y tanques de cultivo.

El extremo hasta el cual los ecosistemas naturales son alterados dependerá, entre otros aspectos, de si los sistemas de cultivo son intensivos o extensivos, de la gestión de dichos sistemas, de las especies cultivadas, de la localización, y del volumen de producción.

Las técnicas de cultivo intensivo, donde el crecimiento de los organismos acuáticos depende del alimento suministrado en forma de pienso granulado, generalmente causan mayores efectos sobre el medio que las técnicas extensivas,

donde se emplea la propia producción natural de los ecosistemas acuáticos como fuente de alimento (Vergara y Molina, 1997).

1.5 El amonio como factor limitante en acuicultura

El amonio es un producto final del catabolismo de los aminoácidos contenidos en el pienso, que es altamente tóxico y se elimina en solución. Su eliminación como amoníaco libre está asociado a la vida acuática (Castelló, 1993). La pérdida de nitrógeno por excreción tiene lugar a través de las branquias de los peces de forma pasiva. La urea y otros compuestos nitrogenados se excretan en cantidades considerablemente menores (Steffens, 1987).

La toxicidad de los componentes nitrogenados excretados por los peces constituye uno de los principales factores limitantes en acuicultura intensiva. El amonio se encuentra presente en el agua tanto en la forma ionizada (NH_4^+) como no ionizada (NH_3), siendo el equilibrio del amonio en el agua fuertemente dependiente del pH del medio. La toxicidad del amonio para los organismos acuáticos es atribuida principalmente a la forma no ionizada.

A finales de los años 80 el contenido de nitrógeno en dietas para peces era de un 7,3%. A partir de la década de lo 90, con la introducción de las dietas de alta energía estos valores disminuyeron aproximadamente hasta un 6,6% (Carlsson, 1990) y continúan disminuyendo en la actualidad.

La mayor contaminación producida en acuicultura proviene normalmente del exceso de alimento suministrado (comida sobrante), pero las heces y la

excreción de amonio en el agua también contribuyen significativamente. Por esta razón a finales de la década de los 80 se empezaron a producir dietas con menor contenido en proteínas, hasta un 40%, y mayor en grasas, hasta un 30% (estas dietas son las que reciben el nombre de alta energía por su mayor contenido en grasas). De esta forma no se afecta la velocidad de crecimiento de los peces, siendo además la excreción de nitrógeno y fósforo al medio reducida considerablemente, consiguiéndose una disminución del nitrógeno excretado al medio de hasta un 35% aproximadamente (Johnsen & Wandsvick, 1990).

En cualquier caso, y teniendo en cuenta que en el medio marino resulta fundamental reducir en lo posible las emisiones de nitrógeno (elemento altamente contaminante), y que dichas emisiones proceden bien del alimento no ingerido o bien del alimento absorbido y no depositado en el organismo, son muy pocos sin embargo los trabajos publicados que hacen referencia a la relación entre la utilización de las dietas y la excreción al medio de amonio como producto principal del metabolismo de las proteínas contenidas en el alimento.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Desde el punto de vista de la producción del bocinegro (*Pagrus pagrus*) en cautividad, este espárido presenta una alta tasa de crecimiento, tiene buena adaptación a las condiciones de cultivo y no presenta serios problemas de enfermedades. Además la pesca del bocinegro es muy limitada (4.022 Tm en 1995), insuficiente para la demanda del mercado, lo que representa una oportunidad para la acuicultura (FAO, 1997).

Por todo esto el objetivo principal del presente trabajo consiste en contribuir de forma práctica al desarrollo del cultivo comercial del bocinegro, como especie considerada candidata para la diversificación de la acuicultura en el Mediterráneo y Canarias.

Para conseguir llevar a cabo este objetivo general, se pretenden conseguir los siguientes objetivos específicos:

1. Adaptación de la metodología de determinación de amonio en agua a los niveles de excreción observados en bocinegro.
2. Estudio de los niveles de excreción en peces alimentados con una dieta basal con harina de pescado como única fuente proteica.
3. Evaluación del efecto de la inclusión de diferentes niveles de harina de carcasa de langostino como fuente proteica alternativa en piensos para bocinegro.
4. Evaluación del efecto sobre la excreción de amonio por la adición de carotenoides en el pienso.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Condiciones experimentales de cultivo y toma de muestras

3.1.1 Sistema experimental

El experimento llevado a cabo en este trabajo fue realizado en la nave de cultivos marinos del Instituto Canario de Ciencias Marinas, durante el mes de Febrero del 2002.



Foto 1. Nave de cultivos.

La experiencia se desarrolló en 21 tanques de fibra de vidrio con una capacidad de 100 l cada uno, de fondo plano, liso y de color gris (Foto 2). Todos los tanques tuvieron suministro de agua de mar procedente de un tanque de sedimentación situado en el exterior de la planta de cultivos, el agua entraba por el borde tangencial en superficie de forma continua. Aireación constante en cada tanque. Cada uno de los tanques estaba cubierto con una red (Foto 3) para evitar que los peces saltaran fuera de los tanques.



Foto 2. Sistema de tanques utilizados.

Los peces utilizados para la realización del presente experimento habían sido previamente dispuestos al azar en grupos de 12 peces (triplicados por tratamiento) y alimentados a saciedad aparente 3 veces al día con los piensos experimentales que se detallan en un apartado posterior, durante un período de tres meses a lo largo de los cuales se realizó la evaluación del crecimiento y se estudiaron índices de utilización del alimento. Además fue necesario el análisis de los piensos y peces que se llevó a cabo según metodología descrita en los apartados 3.3 y 3.4.



Foto 3



Foto 4

Al inicio de la experiencia previa los peces tenían un peso medio de 44,14 g, teniendo a la hora de realizar la presente experiencia 98,83 g de media con alguna variación dependiendo de las diferentes dietas suministradas. La densidad de los tanques en el momento de la toma de muestras estuvo en torno a los 10 Kg/m³.



Foto 5. Bocinegro, Pargo (*Pagrus pagrus*).

3.1.2 Muestreos

El experimento tuvo una duración de 3 semanas, a lo largo del mes de febrero, durante las cuales se realizaron 3 muestreos de 24 horas cada uno, en intervalos de siete días. Estos tres muestreos se realizaron de la misma forma y en las mismas condiciones para así poder tener 3 días de datos y poder hacer comparaciones.

Durante el día que tenía lugar el muestreo los peces sólo recibieron una toma de pienso a primera hora de la mañana, sobre las 8:30 a.m. Acto seguido se recogieron las primeras muestras del día, que corresponderían a la hora 0. las

MATERIAL Y MÉTODOS

muestras de agua se recogían en botes negros para evitar la luz, y se cerraban inmediatamente, incluso debajo del agua para que no entrara aire y este pudiera reaccionar con el amonio. Las muestras se recogieron del agua de salida de los tanques para no alterar a los peces levantando las redes, metiendo los botes dentro de los tanques, etc. lo cual pudiera alterar los resultados de excreción reales.

Las muestras así obtenidas se llevaban al laboratorio donde se analizaron inmediatamente.

La recogida de muestras tenía lugar cada dos horas a partir de la recogida de la primera muestra. Así hasta las doce horas, es decir, hasta las 20:30 p.m. La última muestra se recogía a las 24 horas (8:30 a.m. del día siguiente).

Fue también imprescindible regular al mínimo posible el caudal de entrada a los tanques para calcular la tasa de renovación de cada tanque en cada uno de los intervalos de muestreo. Así mismo fue necesario conocer el volumen de agua de cada tanque, el número de peces en cada uno de ellos, el peso de cada pez para saber la biomasa total del tanque. Todos estos datos son importantes para luego poder hacer comparaciones entre los tanques alimentados con las distintas dietas.

3.1.3 Alimentación y parámetros del agua

Los peces fueron alimentados hasta saciedad aparente, de lunes a sábado, 3 veces al día (8:30, 11:30 y 13:30 hrs), el domingo comían en una sola toma a las 12:00 hrs.

Diariamente se anotaron las mortalidades en su caso, y los gramos de pienso consumidos por los peces de cada tanque. Dos veces por semana se midieron temperatura y concentración de oxígeno disuelto. Las medidas de pH no fueron controladas puesto que el flujo y la renovación del agua en los tanques eran buenos. A esto hay que sumar el control de la limpieza de los tanques con la finalidad de tener una buena calidad de agua en los sistemas y así evitar posibles enfermedades por malas condiciones de agua.

3.2 Dietas experimentales

3.2.1 Formulación

El diseño del experimento consistió en la alimentación de bocinegros del mismo tamaño bajo las mismas condiciones de cultivo con diferentes piensos formulados y elaborados en el Instituto Canario de Ciencias Marinas con la finalidad de estudiar el efecto de éstos sobre la excreción de amonio al medio ambiente.

Se formularon 6 dietas que fueron comparadas frente a una dieta control basada en resultados previos obtenidos en el ICCM (Schuchardt et al., 1999).

Dieta Control (C): Control con harina y aceite de pescado (50% de proteínas y 15% de lípidos).

Dieta Ax 100: Dieta C + 100 mg de astaxantina (Carophyll pink, F. Hoffmann, La Roche).

Dieta Cx 40: Dieta C + 40 mg de cantaxantina.

Dieta Cx 60: Dieta C + 60 mg de cantaxantina.

Dieta Cx 100: Dieta C + 100 mg de cantaxantina.

Dieta HL 20: 20 mg de astaxantina procedente de harina de carcasa de langostino ajustado a 50% de proteínas y 15% de lípidos.

Dieta HL 40: 40 mg de astaxantina procedente de harina de carcasa de langostino ajustado a 50% de proteínas y 15% de lípidos.

La harina de carcasa de langostino se utilizó como fuente proteica por ser un tipo de alimento normalmente ingerido en el medio por esta especie. Favorece además la deposición de un color rosado en la piel del animal.

La astaxantina y la cantaxantina se utilizaron por ser pigmentos carotenoides que proporcionan color a la piel. Estos están relacionados además con la absorción y asimilación de los lípidos en el animal. Si los lípidos son absorbidos correctamente por el animal pueden llegar a usarse de forma eficiente por el pez, favoreciéndose el uso de la proteína y su deposición como peso corporal, disminuyendo de esta forma la eliminación de compuestos nitrogenados al medio. Se ha demostrado que estos carotenoides protegen eficazmente la membrana celular in vitro mediante un mecanismo antioxidante (Palozza & Krinsky, 1992), es decir, son potentes antioxidantes de lípidos, sobre todo la astaxantina (Krinsky, 1993).

Las proteínas están en continuo proceso de síntesis y degradación (catabolismo). Esto es un factor fundamental para entender como cuantificar los

procesos de ingestión, digestión, circulación, síntesis e hidrólisis, donde proteínas / aminoácidos están en un estado de transformación (Fig. 3).

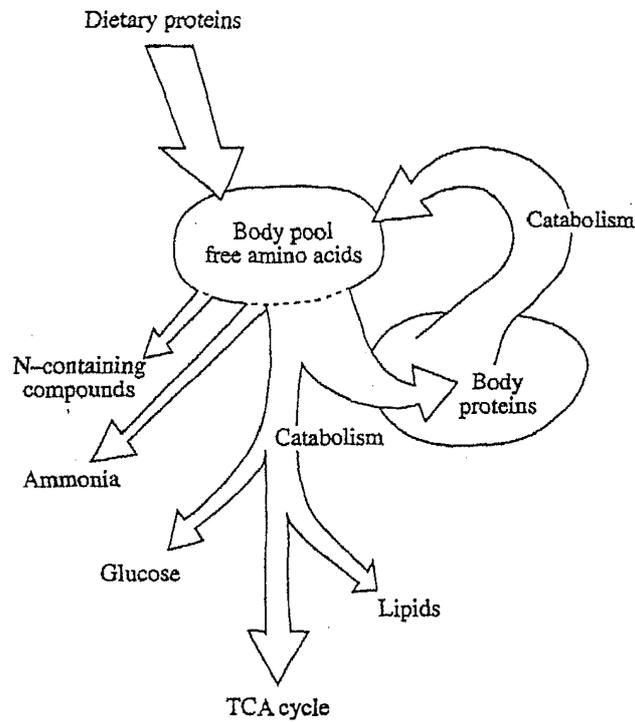


Fig. 3._Principales vías de las proteínas y aminoácidos en el metabolismo.
Fuente: Dabrowsky & Guderley, 2002.

3.2.2 Elaboración

Las dietas se elaboraron en el Instituto Canario de Ciencias Marinas, Taliarte, Telde.

Una vez que todos los ingredientes estuvieron bien mezclados y homogeneizados se pasaron por una granuladora CPM de 2 HP, (mod. 8.3), la matriz usada para todos los piensos fue de 3 mm de diámetro de gránulos. Los granos así obtenidos se secaron a una temperatura inferior a los 40°C durante unas 12 horas y se guardaron en una cámara refrigerada a 4°C, desde donde se

iba sacando la cantidad necesaria con la que ir alimentando a los peces cada día. Se guardó muestra de cada uno de ellos a -80°C para su posterior análisis.

3.3 Parámetros biológicos utilizados

3.3.1 Crecimiento

El crecimiento, en peso, de cada lote experimental se determinó según la fórmula siguiente:

$$\text{Crecimiento (\% sobre el peso inicial)} = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} \times 100$$

3.3.2 Índice de conversión del alimento

Se define como la relación entre el alimento ingerido y el incremento de peso.

$$\text{IC} = \text{Alimento ingerido (g)} / \text{Incremento de peso (g)}$$

3.3.3 Tasa de crecimiento específico (SGR)

$$\text{SGR} = ((\text{Ln Peso final} - \text{Ln Peso inicial}) / \text{n}^{\circ} \text{ días}) \times 100$$

3.4 Métodos analíticos de composición

3.4.1 *Determinación de amonio en agua de mar*

3.4.1.1 Método colorimétrico del indofenol azul (Le Corre y Treguer, 1976)

El fenol alcalino y el cloruro reaccionan con amonio para formar indofenol azul, el cual es proporcional a la concentración de amonio.

El color azul formado se intensifica con sodio nitropruside, que actúa como catalizador.

Las medidas fotométricas se hacen a una longitud de onda de 625 nm.

3.4.1.2 Reactivos

Fue necesario la preparación de dos reactivos:

Reactivo 1:

Se disuelven 17,5 g de fenol cristalizado y 0,2 g de nitropruside de sodio ($\text{Na}_2 [\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 500 ml de agua destilada. Mantener refrigerado a 4°C en una botella de cristal ámbar para que no le dé la luz.

Reactivo 2:

Se mezclan 400 ml de agua destilada, 170 g de citrato de trisodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y 10 g de sosa (NaOH) en grano. Una vez disuelto todo se calienta hasta hervir y se mantiene en ebullición durante 20 minutos. Se enfría y

se añaden 2 g de ácido diclorocianúrico ($C_3HCl_2N_3O_3$). Se diluye todo a 500 ml con agua destilada, y se guarda en frigorífico a una temperatura de 4°C.

3.4.1.3 Estándares

Solución patrón:

Se cogen 2,360 g de sulfato de amonio seco, que previamente ha estado 24 horas a 100°C, y se diluyen en 500 ml de agua destilada. Se guarda en botella ambar a 4°C.

Solución stock:

Se cogen 10 ml de la solución patrón y se diluyen en 500 ml de agua destilada.

Soluciones estándar de trabajo:

Estos estándares se deben utilizar únicamente recién preparados. Para ello se coge de la solución stock, los siguientes volúmenes: 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml y 3 ml, y se llevan a 100 ml con agua de mar de la que entra en el sistema. Los estándares de trabajo tendrán así unas concentraciones de 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm y 300 ppm de amonio, respectivamente. Con estas disoluciones se calibrará el espectrofotómetro, y se hallará la curva de trabajo.

3.4.1.4 Blanco

Se añade 5 ml de agua salada en un tubo de ensayo, más 0,25 ml del reactivo 1, se agita, y se añaden otros 0,25 ml del reactivo 2 y se vuelve a agitar

en el vortex. Después se calienta a 100°C durante 30 minutos, se enfría y se calibra el espectrofotómetro antes de leer las muestras.

3.4.1.5 Procedimiento

De las muestras recogidas de los tanques se vierten 5 ml en tubos de ensayo, añadiéndose 0,25 ml del reactivo 1 (fenol). Agitar en el vortex y añadir 0,25 ml del reactivo 2 (citrato de sodio). Volver a agitar y calentar a 100°C durante 30 minutos. Enfriar en la campana y leer en el espectrofotómetro frente a un blanco.

Tabla I

	MUESTRA	ESTANDARES (0.5,1,1.5,2,3)	BLANCO
Muestra	5 ml		
Estándares		5 ml	
Reactivo 1	0,25 ml	0,25 ml	0,25 ml
Agitar			
Reactivo 2	0,25 ml	0,25 ml	0,25 ml
Agitar y calentar (100°C) durante 30 minutos			
Agua de mar			5 ml
Enfriar y leer frente a un blanco a 625 nm			

3.4.2 *Análisis de piensos y muestras de peces*

3.4.2.1 Humedad

La humedad de las muestras se determinó por desecación en estufa a 105°C hasta peso constante según el método de la AOAC (1995).

3.4.2.2 Ceniza

El contenido en ceniza se determinó mediante incineración de la muestra en horno mufla a 450°C hasta peso constante según el método de la AOAC (1995).

3.4.2.3 Proteínas

El contenido en proteínas (AOAC, 1995) se calculó a partir del contenido en nitrógeno total de las muestras determinado mediante la técnica Kjeldahl. El método consiste en la determinación de las muestras con ácido sulfúrico concentrado a 420°C en presencia de un catalizador de cobre, seguido de una destilación con hidróxido sódico al 40%, utilizando ácido bórico como sustancia receptora, en una unidad destiladora (Kjeltek auto, sampler system 1035 Analyser). Por último se realiza una valoración con ácido clorhídrico mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Proteínas (\%)} = ((V - P) \times 0,1 \times 14,007 \times 6,25 \times 100) / \text{Peso de la muestra (mg)}$$

V = ml de HCl utilizados en la valoración de la muestra

P = la media de la valoración de los patrones (ml)

0.1= Normalidad de ácido clorhídrico

6.25 = Factor de conversión de las proteínas

14.007 = Peso molecular del nitrógeno

3.4.2.4 Lípidos totales

La extracción de los lípidos se realizó según el método descrito por Folch et al, (1957). El método consiste en la homogeneización de la muestra con una mezcla de cloroformo-metanol (2:1 v/v) durante 5 minutos con una homogeneizadora Ultra Turrax, a 11000 r.p.m. A continuación se filtra la solución a través de lana de vidrio y se mezcla la solución filtrada con una solución de KCl al 0,88%. Después de una centrifugación de 5 minutos (2000 r.p.m. a 15°C) se elimina la fase acuosa, recuperándose la fase orgánica. El contenido en lípidos totales de la muestra se determina después de la evaporación completa del cloroformo en una corriente de nitrógeno.

3.5 Tratamientos estadísticos

Todos los datos del experimento fueron sometidos a análisis de varianza de una vía (ANOVA), siendo las diferencias entre medias comparadas por el test de Scheffe con un intervalo de confianza del 99% ($P \leq 0.05$) (ZAR, 1984), para el caso de los datos de amonio.

En el caso de los datos de pesos finales no se obtuvieron diferencias significativas. Al igual que con los de índice de conversión.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Parámetros de cultivo

Los parámetros medidos se mantuvieron sin mucha variación a lo largo del experimento (Tabla II). Las medidas del pH no fueron controladas puesto que el flujo y la renovación del agua en los tanques eran buenos. La salinidad del medio natural estuvo entre 36 y 37 ppm. Los valores que aparecen en las tablas son promedios de los datos tomados a lo largo de la experiencia.

Tabla II. Parámetros de cultivo medios a lo largo de la experiencia.

Parámetros	Octubre 2001 - Febrero 2002
Oxígeno disuelto (mg/l)	7,17
Temperatura (°C)	19,8

4.2 Análisis de las dietas

Los valores mostrados en la Tabla III son valores promedios de los tratamientos seguidos en este experimento.

En el caso de la composición de ceniza entre las dietas HL 20 y HL 40 mostraron un nivel algo más alto siendo la carcasa de langostino la responsable del incremento de ceniza en las dietas.

Tabla III. Composición bioquímica de las dietas (%del peso seco).

	C	AX 100	CX 40	CX 60	CX 100	HL 20	HL 40
Proteínas %(peso seco)	53,22	53,99	54,37	52,47	54,53	54,86	54,90
Lípidos (%)	11,82	13,36	12,56	13,73	12,26	12,36	12,59
Humedad (%)	11,01	10,11	12,40	9,68	11,81	12,31	11,99
Cenizas (%)	9,60	8,79	9,24	8,28	9,18	10,85	12,03

4.3 Crecimiento y utilización del alimento

Los valores de índice de conversión (IC) que se muestran en la tabla IV no presentan diferencias significativas entre ellos, observándose los valores inferiores de 1,32 para las dietas control y la que incluye 40 mg de cantaxantina (Cx 40) y el valor máximo de 1,58 para la dieta que incluye 40 mg de harina de carcasa de langostino.

La tasa de crecimiento específica (SGR) presenta valores máximos de 0,88 para las dietas control, la que incluye 100 mg de astaxantina y la que contiene 40 mg de harina de carcasa de langostino, y los mínimos de 0,78 para la dieta con 100 mg de cantaxantina.

El mayor porcentaje de crecimiento en los peces aparece en los peces alimentados con la dieta control (C), un 156% y el menor, un 132%, para los peces alimentados con la dieta que incluye 100 mg de cantaxantina (Cx 100).

Tabla IV. Índices de utilización del alimento para las diferentes dietas.

	C	AX 100	CX 40	CX 60	CX 100	HL 20	HL 40
Peso inicial (g)	43,93	44,6	43,16	44,3	45,1	44,46	43,43
Peso final (g)	112,61	113,92	107,97	106,94	104,26	111,96	111,51
Peso ganado (g)	68,68	69,32	64,81	62,64	59,19	67,5	68,08
Alimento ingerido (g)	808,02	840,59	1211,52	664,72	703,81	935,12	1274,52
Crecimiento (%)	156,53	155,06	150,41	149,28	132,65	154,32	156,91
IC	1,32 ± 0,04	1,54 ± 0,02	1,32 ± 0,08	1,48	1,46 ± 0,02	1,39 ± 0,18	1,58 ± 0,25
SGR	0,88	0,88	0,86	0,82	0,78	0,86	0,88

4.4 Composición bioquímica final del músculo

Los resultados de composición bioquímica del músculo al principio y al finalizar la experiencia se muestran en las tablas V y VI. Se observa en general un incremento en proteínas y disminución en los lípidos entre los peces iniciales y finales.

Tabla V. Composición bioquímica inicial del músculo (% peso seco).

	Músculo
Proteínas (%)	81,22
Lípidos (%)	3,06
Humedad (%)	75,13

Los peces alimentados con el pienso que incluye 60 mg de cantaxantina (Cx 60) mostraron los valores más altos de proteína, viniendo acompañado por el menor contenido en lípidos encontrado en el músculo entre todos los tratamientos ensayados.

Entre las dietas que incluyen carotenoides se observa que aquellas con cantaxantina muestran mayor cantidad de proteína en el músculo, pero no se ve una relación positiva entre la cantidad de carotenoides y el porcentaje de proteína en el músculo.

Los valores más altos de lípidos en el músculo se observaron en los peces alimentados con la dieta control (C), reflejando a su vez los niveles más bajos de proteínas en el músculo.

Tabla VI. Composición bioquímica final del músculo (% peso seco).

	C	AX 100	CX 40	CX 60	CX 100	HL 20	HL 40
Proteínas	81,03	83,75	85,57	90,77	86,52	83,74	85,88
Lípidos	3,24	2,98	2,74	2,20	2,50	3,15	2,53
Humedad	73,91	74,34	74,56	75,3	75	74,41	74,86

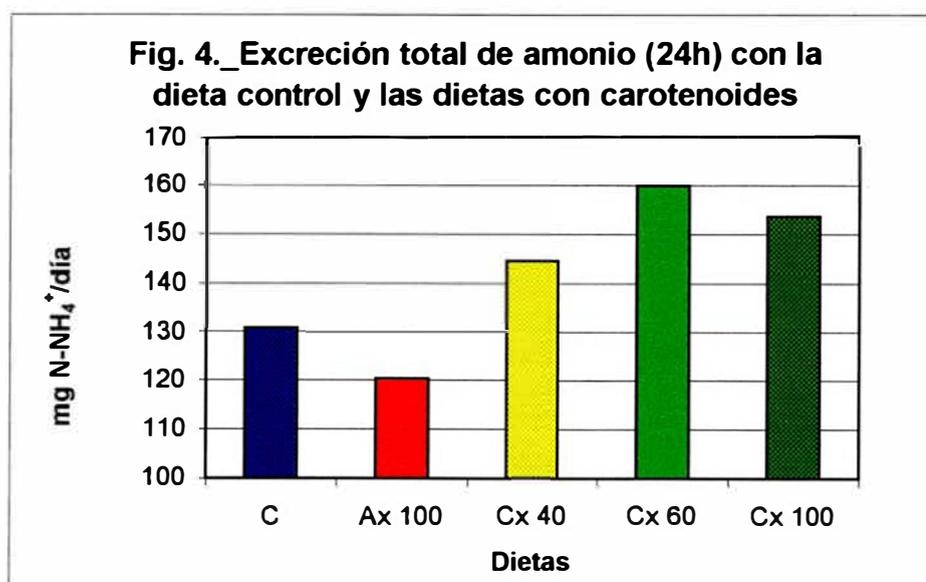
4.5 Excreción de amonio

De los datos obtenidos de los tres días de muestreo, se sacaron medias de cada una de las siete dietas con las que se alimentaron a los bocinegros y se elaboraron una serie de tablas a partir de las cuales es posible ver la relación de las dietas en función de lo excretado a través de las branquias de los bocinegros,

y así poder hacer una estimación de la calidad de las dietas y el aprovechamiento metabólico que estos peces realizan de cada dieta.

4.5.1 Excreción total

Los resultados obtenidos en forma de excreción total de amonio durante un periodo de un día, se muestran a continuación, haciendo las comparaciones entre la dieta control y las dietas con carotenoides por un lado (Fig. 4) y la dieta control con las dietas incluyendo diferentes proporciones de harina de carcasa de langostino por otro (Fig. 5).

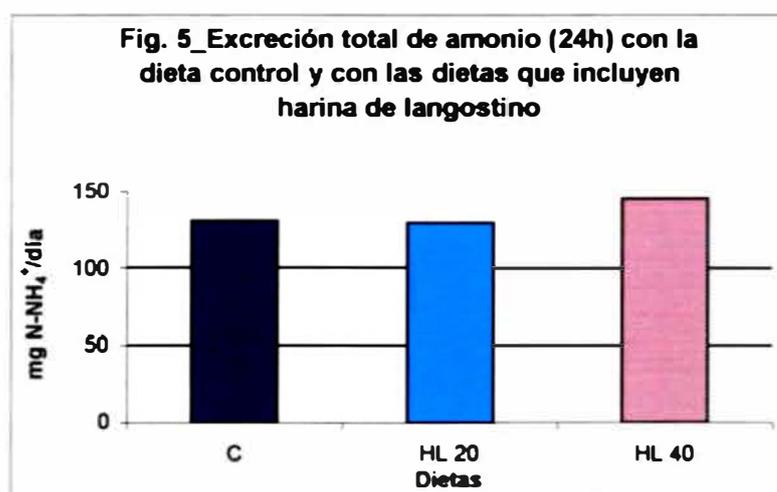


Atendiendo a los resultados de excreción total diaria mostrados en la Fig. 4 se observó un efecto positivo sobre la excreción de amonio al medio en comparación con la dieta control, cuando se adicionaron 100 mg de astaxantina por Kg de pienso. Por el contrario, la adición de cantaxantina pareció influir de

forma negativa en la excreción de amonio, si bien los valores no fueron significativamente diferentes entre sí.

La adición de harina de carcasa de langostino a la formula (Fig. 5) produjo valores de excreción diaria total similares para la HL 20 y superiores para la HL 40 cuando se compara con el pienso control.

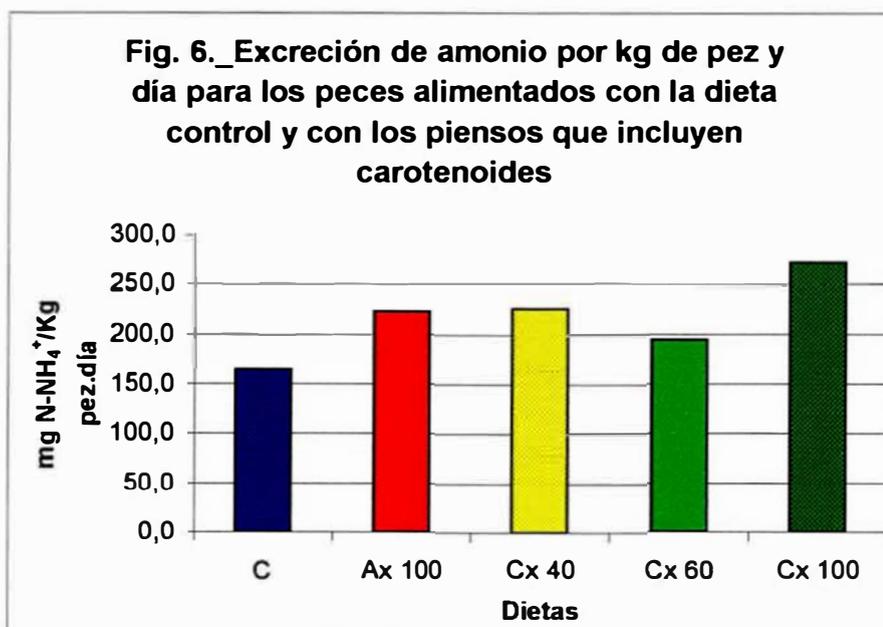
La excreción ocasionada por la alimentación con HL 40 fue comparable a las obtenidas para las dietas que incluyeron cantaxantina.



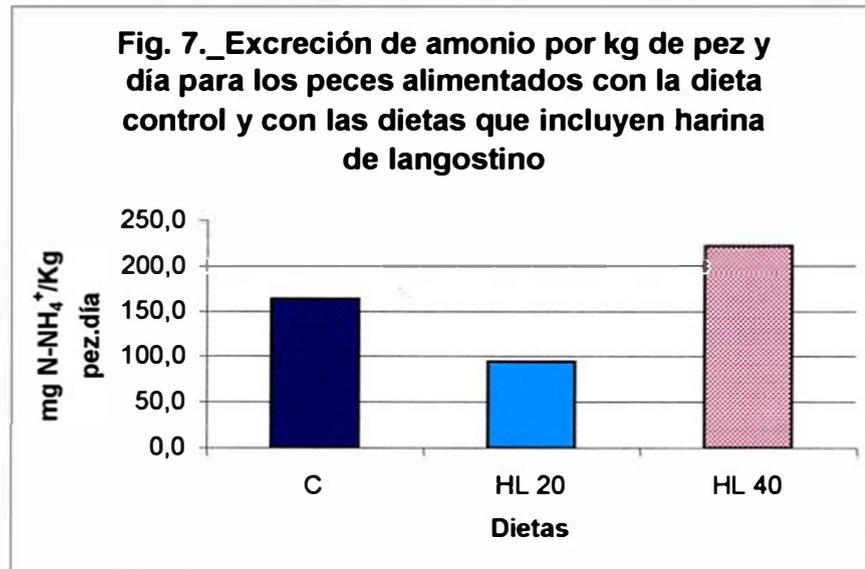
En las Fig. 6 y Fig. 7 se muestra la concentración de amonio (N-NH_4^+) expresada por kg de bocinegros por dieta y día.

Al hacer una primera comparación entre las dos figuras siguientes, es decir, entre las dietas que llevan carotenoides y las que incluyen harina de carcasa de langostino, se puede apreciar que la utilización que el bocinegro realiza de las proteínas metabolizadas a partir de las dietas con carotenoides es menos

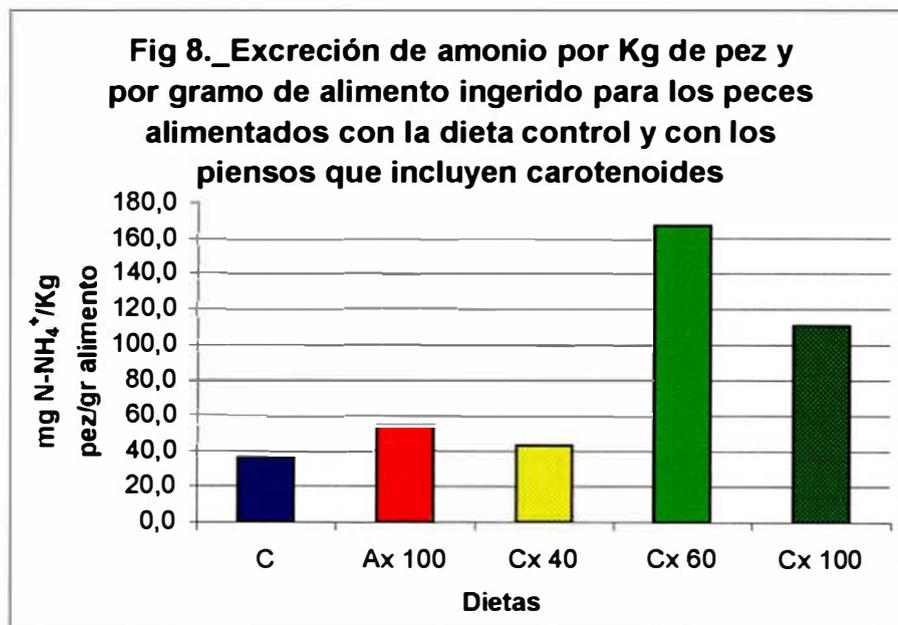
significativa que el realizado con las dietas que incluyen harina de carcasa de langostino. Además el amonio eliminado en la Fig. 6 es en todos los casos significativamente mayor que la dieta control, dando valores mínimos de 190 ppm hasta 270 ppm de amonio al día. También se observa que entre las dietas Ax 100 y Cx 100 los peces realizan un peor aprovechamiento metabólico de la cantaxantina, ya que el organismo del pez expulsa hasta 50 ppm más de amonio que los que fueron alimentados con la dieta Ax 100. Sin embargo, al comparar las dietas Cx 40 y Cx 60 se ve que con la última, que tiene mayor cantidad de carotenoide, la excreción de amonio es significativamente menor que con la dieta Cx 40.



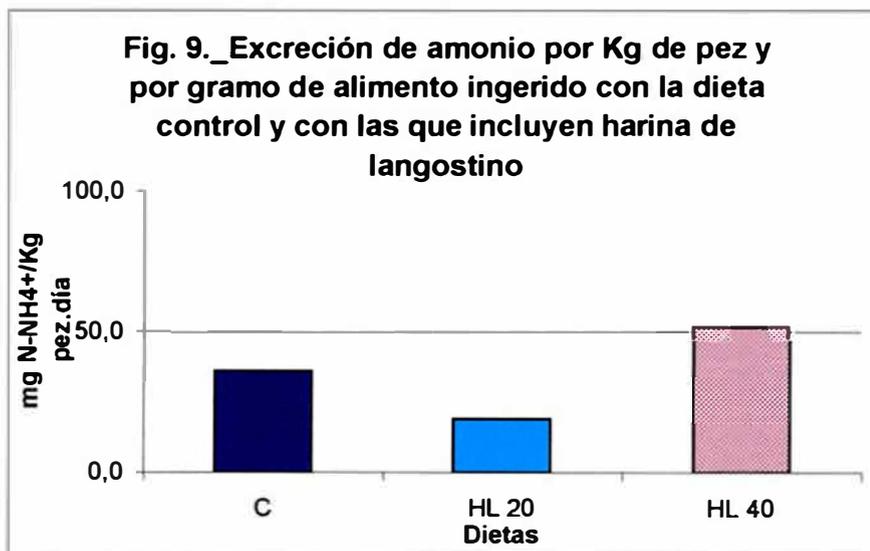
En las dietas con harina de carcasa de langostino la concentración de amonio expulsada al medio es menor, del orden de 90 hasta 220 ppm (en la Fig. 6 variaba de 190-270 ppm).



Si se expresan los datos en función de la excreción de amonio por Kg de pez y gramo de alimento ingerido para cada dieta, la tendencia de los resultados observados en la figura 8 son muy similares a lo ocurrido con los resultados de la figura 4.



Para los bocinegros que comieron piensos con harinas de langostino sucede exactamente lo mismo que en las figuras 7 y 5. Los valores de la dieta HL 40 siguen siendo mayores que los obtenidos para la dieta HL 20 los cuales fueron ligeramente inferiores a los de la dieta control.

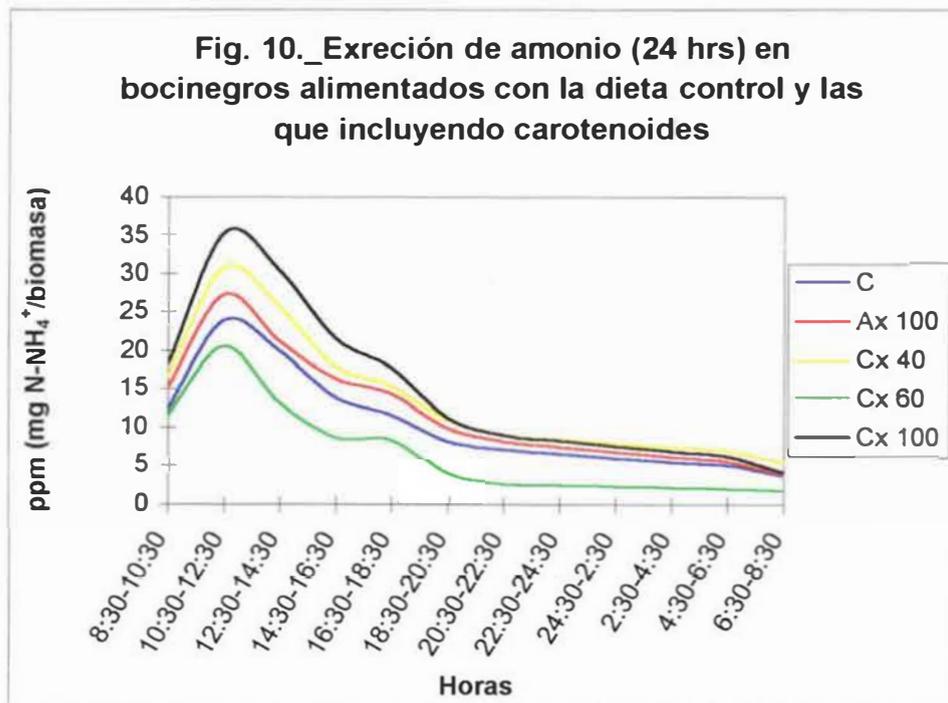


Las diferencias significativas que encontramos entre las dietas que incluyen 40 y 60 mg de cantaxantina (Cx 40 y Cx 60) se pueden apreciar en las figuras 4 y 8, en esta última el valor de amonio de la excreción para la dieta Cx 60 se dispara muy por encima del resto de las dietas.

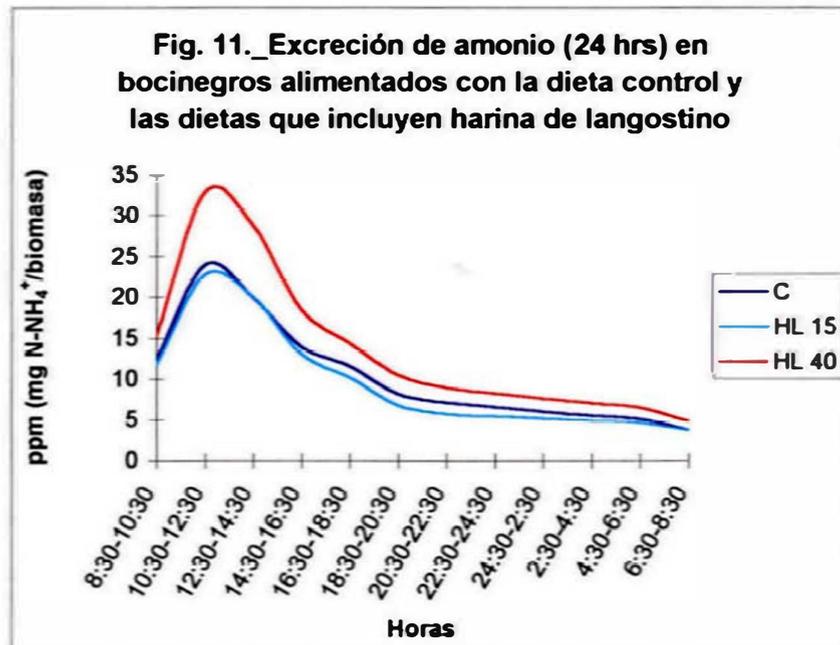
4.5.2 Curvas de excreción

A continuación se muestran las figuras 10 y 11, los datos finales de los picos de excreción de amonio determinados en función del tiempo a lo largo de 24 horas de muestreo. En estas figuras se puede observar la evolución de la excreción del amonio como producto tóxico para los peces, dando lugar a unos picos en los que la excreción es máxima, lo que sucede más o menos a las 4 horas de la ingesta del alimento (11:30h-13:30h). A partir de este momento, los peces excretan cada vez menos hasta llegar a valores mínimos de 5 ppm que corresponderían a los niveles basales medidos en los tanques.

La figura 10 muestra los picos de excreción máximos a lo largo de un día en términos de amonio excretado por biomasa de cada dieta, aquí hay que tener en cuenta que la biomasa no fue la misma para todas las dietas, en las que contienen 60 y 100 mg de cantaxantina la biomasa resultó ser menor que en el resto de las dietas. Vemos que los valores máximos los encontramos para la dieta Cx 100 superando los 35 mg N-NH₄⁺/biomasa y los mínimos que son alrededor de 20 mg N-NH₄⁺/biomasa aparecen para la dieta Cx 60.



En la figura 11 se comparan la dieta control con las que incluyen harina de carcasa de langostino. Los picos de excreción máxima siguen apareciendo alrededor de las 4h después de la alimentación. Aquí los valores más altos de amonio son para la dieta HL 40 superando con diferencia a los de la dieta control los cuales son muy parecidos a los de la dieta HL 20 siendo estos inferiores.



4.6 Aproximación biológica a la producción en jaulas

Para llevar a cabo una aproximación biológica a la producción de bocinegros en jaulas se utilizaron los resultados de utilización del alimento y excreción de amonio al medio obtenidos para las diferentes dieta experimentales, todo ello extrapolándose para la producción de una Tm de pescado con cada uno de ellos.

Para la realización de los cálculos se supone un stock de 1000 peces de 100 g en el sistema, que estuvieron a una densidad similar a la utilizada en la experiencia ($\sim 10 \text{ Kg/m}^3$). El despesque de una Tm al finalizar el período de alimentación necesario para cada uno de los piensos supondría un incremento de 900 Kg de peso en el sistema.

Tabla VII. Amonio total excretado por dieta en jaulas.

DIETA	IC	Alimento total suministrado (kg)	SGR	Días de alimentación	mg N-NH ₄ ⁺ /kg pez/día/gr alimento ingerido	N-NH ₄ ⁺ total excretado (kg)
Control	1,32	1188	0,88	250	35,9	42,65
Ax 100	1,54	1386	0,88	250	54,5	75,54
Cx 40	1,34	1206	0,86	255	42,9	51,74
Cx 60	1,48	1332	0,82	268	167	222,44
Cx 100	1,46	1314	0,78	282	110,6	145,33
HL 20	1,39	1251	0,86	255	18,7	23,39
HL 40	1,58	1422	0,88	250	51,8	73,66

Esta tabla nos muestra el total de amonio excretado por dieta y para 1000 peces engordados desde 100 g hasta 900 g. Los resultado finales expresados en Kg de amonio total expulsado al medio marino, nos muestran que la dieta Cx 60 es la que más contamina con un máximo de 222 Kg de amonio, mientras que la dieta con carotenoides que menos excreta es la Cx 40 con 51 Kg de amonio, ambas dietas excretan más que la dieta control.

Las dietas que incluyen harina de carcasa de langostino muestran niveles más bajos de excreción de amonio que las dietas con carotenoides, incluso la dieta HL 20 excreta menos amonio que la dieta control, 23 Kg, y la que contiene 40 mg de harina de carcasa de langostino es la que presenta los valores máximos con 73 Kg de amonio total excretado.

DISCUSIÓN

5 DISCUSIÓN

La incorporación de nuevas especies de peces marinos a la acuicultura, es un reto para el futuro desarrollo de esta actividad. Los avances realizados en el establecimiento de las técnicas de cultivo de bocinegro, permiten considerarlo como una especie con un fuerte potencial para la acuicultura, siendo previsible que su cultivo experimente un impulso importante tanto en el área mediterránea, como en zonas templadas del Atlántico, incluyendo el Archipiélago Canario.

En el presente estudio se ha estudiado el amonio (N-NH_4^+) como principal producto final del metabolismo de la proteína en peces teleósteos (Engine & Carter, 2001). Al igual que otros animales, el bocinegro usa el componente de nitrógeno de las proteínas digeridas para construir sus propias proteínas, pero no puede metabolizar el componente nitrogenado para obtener energía. Cuando las proteínas son metabolizadas para obtener energía el componente nitrogenado es excretado directamente como amonio. Los productos de desecho nitrogenados provenientes de la digestión de las proteínas se pueden acumular hasta niveles peligrosos en cultivos intensivos. Por esta razón, las medidas de amonio han sido usadas como indicadores de los efectos del metabolismo de la proteína sobre algunos factores ambientales y nutritivos, y pueden dar una visión del balance del nitrógeno en peces (Engine & Carter, 2001). El valor de amonio excretado aumenta rápido como respuesta al alimento ingerido (Robaina et al., 1999) y gran parte del nitrógeno excretado viene de la desaminación de aminoácidos de las proteínas incluidas en las dietas (Buttle et al., 1995; Engine & Carter, 2001). Muchos agentes estudiados como estresantes tienen otras funciones perjudiciales

(tóxicos, infecciosos, etc.). El amonio puede ser considerado como tóxico o estresante, o como ambos a la vez (Cœurdacier & Dutto, 1999). La amplitud y el momento en que aparecen los picos de excreción dependen del tamaño del pez, de la temperatura del agua y del nitrógeno ingerido (Kaushik & Cowey, 1990).

Después de la ingesta del alimento, sobre las 8:30h, se produjo un aumento inmediato en la excreta de amonio. Las curvas de excreción de amonio siguen una tendencia con el tiempo muy similar para todos los tratamientos ensayados, aumentando rápidamente tras la alimentación, con picos máximos entre las 11:30 y las 13:30h, aproximadamente 4 horas después de la alimentación. Lo mismo ocurre en la Anguila australiana (*Anguilla australis australis*) según Engine & Carter (2001). También la dorada muestra el pico máximo de excreción de amonio a las 4h después de comer (Robaina et al., 1997). Sin embargo, los valores máximos de excreción de amonio para la lubina (*Dicentrarchus labrax*) aparecen a las 8h después de la alimentación (Robaina et al., 1999).

Los carotenoides constituyen un grupo de compuestos que son los principales precursores de la vitamina A. Son sintetizados por las plantas y algunos animales, excluyendo el hombre. Como los carotenoides no se almacenan en el cuerpo en grado apreciable, la carencia de estas sustancias en la dieta o los trastornos de la absorción de lípidos en el intestino, pueden provocar una disminución de sus niveles séricos. Los carotenoides cumplen, además, funciones fisiológicas importantes al actuar como antioxidantes y contribuir al desarrollo y buen estado de salud del pez. El bocinegro es un pez que en estado salvaje presenta una coloración rosada, el gran problema que presenta la producción a

escala comercial de esta especie es la decoloración de la piel observada en peces cultivados. La conservación de la coloración natural del bocinegro es muy importante para el consumidor. El color de los productos marinos es el primer carácter notado por el consumidor y está directamente relacionado con la aceptación o el rechazo del producto. Por esto, el bocinegro es absolutamente dependiente de la dieta para lograr la pigmentación normal que le conocemos, el característico color rosado. Para salmónidos en cautividad, la astaxantina es responsable del color rojo/rosado del músculo (Chebbaki, 2001). Según Barbosa et al. (1999) la astaxantina libre es utilizada más eficazmente que la cantaxantina. Los salmónidos absorben y depositan más carotenoides polares, preferentemente astaxantina antes que cantaxantina (Ostelie et al., 1999). La retención de carotenoides esta influenciada positivamente por el contenido de lípidos en la dieta; esto significa que el coeficiente de digestibilidad aparente de la astaxantina y cantaxantina, es decir el aprovechamiento o absorción, aumenta con el contenido de lípidos de la dieta lo que da como resultado niveles mas altos de carotenoides en la carne. También se ha observado que el tipo de lípidos y su digestibilidad afecta la concentración de carotenoides en la carne; las grasas saturadas reducen la digestibilidad de los carotenoides y por lo tanto su incorporación en la carne. Según Nickell & Bromage (1998) la retención de astaxantina aumenta con el aumento de lípidos en la dieta, lo que indica que los niveles de lípidos en las dietas tienen un efecto positivo en la utilización de astaxantina en truchas (*Oncorhynchus mykiss*).

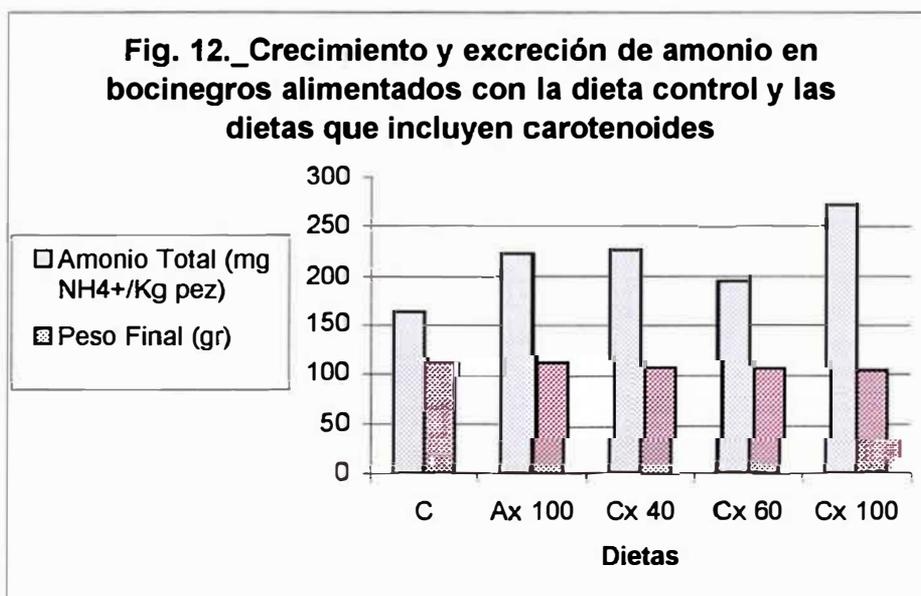
En cuanto a los valores obtenidos de excreción de amonio diarios se observa que en las dietas con carotenoides la más aprovechada por los peces es

la dieta que incluye 100 mg de astaxantina (Ax 100) con un valor de 120 mg N-NH₄⁺/día. Mientras que en las dietas con harina de langostino la más aprovechada (o que menos ha excretado) ha sido la que incluye 20 mg de harina de carcasa de langostino (HL 20) con un valor de 130 mg N-NH₄⁺/día, ambas dietas dieron valores más bajos que la dieta control.

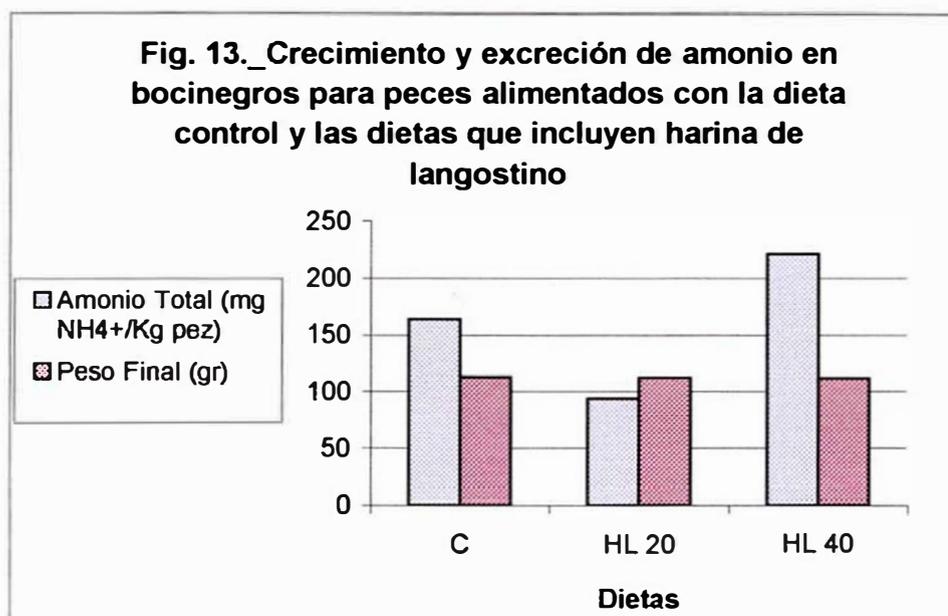
Finalmente, se podría decir que de entre todas las dietas estudiadas, tanto con carotenoides como con harina de langostino, la que presenta valores más bajos de excreción de amonio y, por lo tanto, la que menos contaminaría el medio marino sería la dieta HL 20 con carcasa de langostino.

En cuanto a la relación existente entre las diferentes dietas y los pesos finales obtenidos, la estadística nos dice que no hay diferencias estadísticas significativas, al igual que le sucede a Chebbaki (2001).

Lo que se espera encontrar en esta comparación entre crecimiento y excreción es una relación inversa entre estos 2 factores, es decir, que cuanto más amonio se excrete menor cantidad de nitrógeno se retiene en el interior del pez y, por lo tanto, menor será el crecimiento. Y viceversa, si el pez ha tenido un crecimiento satisfactorio supuestamente los niveles de excreción de N-NH₄⁺ deberían ser bajos. Esto es lo que teóricamente tendría que pasar, pero al comparar la dieta C con el resto de las dietas con carotenoides esta relación no se aprecia, esto puede ser debido a que los carotenoides influyen en la excreción, porque en todos los casos es mayor que en la dieta C, pero no en el crecimiento.



Si observamos lo que pasa con las dietas con harinas de langostino (Fig. 13) sí encontramos una relación entre la excreción y el crecimiento. Usando como referencia la dieta control observamos que en la dieta HL 20 disminuye bastante la concentración de amonio excretado, por debajo del nivel de crecimiento de los peces alimentados con esta dieta, pudiéndose observar claramente la relación antes mencionada. Sin embargo, en la dieta con 40 mg de astaxantina procedente de harina de carcasa de langostino (HL 40) la excreción es mucho mayor y el crecimiento disminuye pero en muy poca proporción, incluso casi es inapreciable.



Según estudios realizados por Fernández et al. (1999) para dietas experimentales con un contenido en proteínas del 50% y en lípidos del 15%, es decir, una dieta control básica se obtuvo una concentración total de amonio en doradas de 348 mg NH₄⁺/ Kg de dorada. Para la realización del anterior experimento se utilizaron doradas de aproximadamente 115 g de peso medio en grupos de 15 peces por tanque, mientras que para la presente experiencia el peso medio de los peces estuvo en torno a los 100 g repartidos en grupos de alrededor de 10 peces por tanque. El método usado para determinar amonio fue el mismo y los muestreos se realizaron de la misma forma (una única toma a primera hora de la mañana, hasta saciedad aparente, etc.). En el presente estudio se obtuvieron unos resultados de 163 mg NH₄⁺/ Kg de bocinegro.

Esto supone que la dorada excreta un 48% más de amonio que el bocinegro, aunque hay que tener en cuenta el peso medio de los peces y las densidades de cada tanque.

CONCLUSIONES

6 CONCLUSIONES

- Los picos de excreción máximos de amonio aparecen alrededor de las 4 horas después de la ingesta del alimento para todas las dietas experimentales.
- Entre los dos carotenoides estudiados en las dietas, la astaxantina es más conveniente que la cantaxantina según emisión de amonio al medio y crecimiento de los peces.
- Las dietas con carotenoides no influyen en el crecimiento pero sí en la excreción. Pueden ayudar en la coloración del pez pero dañan el medio ambiente en mayor grado.
- Respecto a las dietas que incluyen harina de carcasa de langostino, la que contiene 20 mg de esta harina es la que mejores resultados da en lo que a excreción y crecimiento se refiere, incluso mejor que la dieta control.
- La producción en acuicultura del bocinegro como especie alternativa puede resultar menos contaminante que la de dorada debido a sus niveles tan bajos de emisión de amonio al medio.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC (1995). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist. Washington, 1018 pp.
- Barbosa, M.J., Morais, R. and Choubert, G., 1999. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 176, pp. 331-341.
- Barnabé, G., 1991. Acuicultura vol.I y II. Editorial omega Acribia. España. 1099 pp.
- Buttle, L.G., Uglow, R. F. and Cowx I.G., 1995. Effect of dietary protein on the nitrogen excretion and growth of the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquat. Living Resour.*, 8 (4) pp. 407-414.
- Carlsson, S-A., 1990. Fish feed and environmental impact a review of the Swedish development during the last decade. In: Cowey, C.B., Cho, C.Y. (Eds). *Nutritonal Strategies & Aquaculture Waste*, Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste, Ontario, 5-8 June, University of Guelph, Canada. pp. 111-114.
- Carter, C.G., Houlihan, D.F. and Owen, S.F., 1998. Protein synthesis, nitrogen excretion and long-term growth of juvenile *Pleuronectes flesus*. *Journal of Fish Biology*, 53, pp. 272-284.
- Castelló Orvay, 1993. *Acuicultura Marina*. Publicaciones Universitat de Barcelona, pg. 739.

-
- Chebbaki, K., 2001. Efecto de la nutrición sobre la coloración de la piel y la calidad del filete en bocinegro (*Pagrus pagrus*). Tesina Master, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Cœurdacier, J-L. and Dutto, G., 1999. Effect of chronic exposure to ammonia on alterations of proteins and immunoglobulins in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) serum. *Aquat. Living Resour.* 12 (4) pp. 247-253.
- Coll Morales, J., 1986. *Acuicultura Marina Animal*. Eds. Mundiprensa. Madrid 2ª Ed, 670 pp.
- Dabrowski and Guderley, 2002. *Fish Nutrition*. Edited by Halver, J.E. and Hardy, R.W. Chapter 6, pp.333.
- Enell, M & Ackefors, H., 1992. Development of Nordic salmonid production in aquaculture and nutrient discharges into adjacent sea areas. *Aquaculture Europe Magazine (EAS)*, 16: 6-11.
- Engin, K. and Carter, C.G., 2001. Ammonia and urea excretion rates of juvenile Australian short-finned eel (*Anguilla australis australis*) as influenced by dietary protein level. *Aquaculture* 194 (1-2) pp 123-136.
- Fernández Vaquero, Vergara, J.M., A., Robaina, L., Montero, D., López, G., e Izquierdo, M.S., 1999. Excreción de $N-NH_4^+$ en doradas (*Sparus aurata*) alimentadas con diferente calidad de harina de pescado y distintos niveles de lípidos. *Actas del 7º Congreso Nacional de Acuicultura*. Las Palmas de Gran Canaria, 19, 20 y 21 de Mayo 1999, pp.91.
- Folch, J., Lees, M.S., Stanley, G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissue. *J. Biol. Chem.*, 226: 479-509.

-
- Folke, C. & Kautsky, N., 1992. Aquaculture with its environment: prospects for sustainability. *Ocean & Coastal Management*, 17: 5-24.
- Johnsen, F. and Wandsvick, A., 1990. The impact of high energy diets on pollution control in the fish farming industry. In: Cowey, C.B., Cho, C.Y. (Eds). *Nutritional Strategies & Aquaculture Waste*, Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste, Ontario, 5-8 June, University of Guelph, Canada. pp. 51-63.
- Kaushik, S.J., Cowey, C.B., 1990. Dietary factors affecting nitrogen excretion by fish. In: Cowey, C.B., Cho, C.Y. (Eds). *Nutritional Strategies & Aquaculture Waste*, Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste, Ontario, 5-8 June, University of Guelph, Canada. pp. 3-19.
- Krinsky, N.I., 1993. Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Rev. Nutr.*, 13, pp. 561-587.
- Le Corre, L., Treguer, F., 1976. Contribution a l'etude de la matière organique dissoute et des sels nutritifs dans l'eau de mer. Caractéristiques chimiques du Golfe de Gascogne et des upwellings côtiers de l'Afrique du Nord-Ouest. *Thèse d'Etat, Univ. Bretagne Occ., Brest, France*, 490 pp.
- Molina, L., 2000. Impacto Ambiental de un cultivo de jaulas en la bahía de Melenara. Tesis Doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.

- Nickell, D.C. and Bromage, N.R., 1998. The effect of dietary lipid level on variation of flesh pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 161, pp. 237-251.
- Ostelie, M., Bjerkeng, B., and Liaan-Jensen, S., 1999. Accumulation of astaxanthin all-E, 9Z and 13Z geometrical isomers and 3' RS optical isomers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is selective. *American Society for Nutritional Sciences*, pp. 391-398.
- Palozza, P. and Krinsky, N.I., 1992. Astaxanthin and cantaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, vol. 297, no. 2, pp. 291-295.
- Pillay, 1997. *Acuicultura Principios y Prácticas*. Ed. Limusa, S.A. Pg. 699.
- Robaina, L., Moyano, F.J., Izquierdo, M.S., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D., 1997. Corn gluten and meta bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): Nutritional and histological implications. *Aquaculture* 157, pp. 347-359.
- Robaina, L., Corraze, G., Aguirre, P., Blanc, D., Melcion, J.P., Kaushik, S., 1999. Digestibility, postprandial ammonia excretion and selected plasma metabolites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets with or without wheat gluten. *Aquaculture* 179, pp. 45-56.
- Schuchardt, D., 1999. Requerimiento óptimo de proteína en dietas para alevines de bocinegro (*Pagrus pagrus*). Tesina Master. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Steffens, W., 1987. *Principios fundamentales de la alimentación de los peces*. Ed. Acribia. Es. P.274.

Urea Ramos, A.J, 2001. Pesca y Acuicultura Marina. Encuentro Medioambiental Almeriense.

Vergara, J.M., y Molina, L., 1997. Acuicultura y Medio Ambiente. En: Zootecnia base de producción animal. Tomo XIII. Eds. Mundiprensa. Madrid, 376 pp.

ZAR, J.H., 1984. Bioestatistical análisis. (2ª edición). Prentice-Hall. New Jersey, 718 pp.