



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Dpto. de Ciencia Animal

Estudio del crecimiento de la llisa (*Mugil cephalus*)  
alimentada con diferentes piensos en un sistema de  
recirculación

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Acuicultura

AUTOR/A: Magdalena Gálvez, Borja

Tutor/a: Martínez Llorens, Silvia

Cotutor/a: Tomás Vidal, Ana

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023



VNIVERSITAT  
ID VALÈNCIA



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



# Estudio del crecimiento de la llisa (*Mugil cephalus*) alimentada con diferentes piensos en un sistema de recirculación

Trabajo de Fin de Máster

Diciembre de 2022

Autor: Borja Magdalena Gálvez

Tutora: Dra. Silvia Martínez Llorens

Cotutora: Dra. Ana Tomás Vidal

## RESUMEN

La producción acuícola mundial de peces está dominada por especies de bajo nivel trófico, siendo Asia el principal productor de ciprínidos de agua dulce mayoritariamente. En Europa y España la producción de peces se centra en especies marinas carnívoras con altos requerimientos proteicos que precisan de una alimentación con altas cantidades de harina de pescado. Debido a la baja sostenibilidad de este tipo de harinas, se plantean alternativas por medio del uso de fuentes proteicas alternativas que puedan ser aceptadas en las dietas de las especies comerciales. En la UPV se realizó un experimento de alimentación con la llisa (*Mugil cephalus*), una especie autóctona de España que debido a su alimentación omnívora es apta para probar dietas bajas en harina de pescado. Se diseñaron cuatro piensos con diferentes niveles de harina de pescado que se suministraron por triplicado a los diferentes grupos de llisas. La ganancia de peso y los índices de crecimiento fueron bajos en comparación a otros estudios de alimentación realizado sobre llisa. Se concluyó que las necesidades de harina de pescado en larvas y juveniles son más elevadas que en adultos, siendo necesario también aumentar la proporción de proteína bruta en los piensos.

**Palabras clave:** producción, sostenibilidad, nivel trófico, harina de pescado, *Mugil cephalus*, crecimiento.

## ABSTRACT

World aquaculture fish production is dominated by low trophic level species, with Asia being the main producer of mostly freshwater cyprinids. In Europe and Spain, fish production focuses on carnivorous marine species with high protein requirements that need to be fed with high quantities of fishmeal. Due to the low sustainability of this type of fishmeal, alternatives are proposed through the use of alternative protein sources that can be accepted in the diets of commercial species. At the UPV, a feeding experiment was realized with the grey mullet (*Mugil cephalus*), a species native to Spain which, due to its omnivorous diet, is suitable for testing diets low in fishmeal. Four feeds with different levels of fishmeal were designed and fed in triplicate to different groups of mullets. Weight gain and growth indices were low compared to other feeding studies on mullet. It was concluded that the needs for fishmeal in larvae and juveniles are higher than in adults, and it is also necessary to increase the proportion of crude protein in feed.

**Key words:** production, sustainability, trophic level, fishmeal, *Mugil cephalus*, growth.

## RESUM

La producció aqüícola mundial de peixos està dominada per espècies de baix nivell tròfic, sent Àsia el principal productor de ciprínids d'aigua dolça majoritàriament. A Europa i Espanya la producció de peixos se centra en espècies marines carnívores amb alts requeriments proteics que precisen d'una alimentació amb altes quantitats de farina de peix. A causa de la baixa sostenibilitat d'aquesta mena de farines, es plantegen alternatives per mitjà de l'ús de fonts proteiques alternatives que puguen ser acceptades en les dietes de les espècies comercials. En la UPV es va realitzar un experiment d'alimentació amb la llisa (*Mugil cephalus*), una espècie autòctona d'Espanya que a causa de la seua alimentació omnívora és apta per a provar dietes baixes en farina de peix. Es van dissenyar quatre pinsos amb diferents nivells de farina de peix que es van subministrar per triplicat als diferents grups de llisas. El guany de pes i els índexs de creixement van ser baixos en comparació a altres estudis d'alimentació realitzat sobre llisa. Es va concloure que les necessitats de farina de peix en larves i juvenils són més elevades que en adults, sent necessari també augmentar la proporció de proteïna bruta en els pinsos.

**Paraules clau:** producció, sostenibilitat, nivell tròfic, farina de peix, *Mugil cephalus*, creixement.

## Índice de abreviaturas

(AA) Aminoácidos

(AAE) Aminoácidos esenciales

(AAE) Aminoácidos no esenciales

(AG) Ácidos grasos

(AP) Aceite de pescado

(CEC) Coeficiente de la eficiencia del crecimiento

(CSJ) Concentrado proteico de soja

(FAO) Food and Agriculture Organization

(HCH) Harina de carne y huesos

(HP) Harina de pescado

(HPA) Harina de plumas

(HS) Harina de sangre

(HSJ) Harina de soja

(HSPA) Harina de aves de corral

(ICA) Índice de crecimiento alimenticio

(ICTA) Instituto de Ciencia y Tecnología Animal

(IRTA) Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias

(LAC) Laboratorio de Acuicultura

(OCDE) Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

(PB) Proteína bruta

(TAD) Tasa de alimentación diaria

(TCI) Tasa de crecimiento instantánea

(UPV) Universidad Politécnica de Valencia

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Producción en Acuicultura .....	1
1.1.1. Producción acuícola Mundial.....	1
1.1.2. Producción acuícola en Europa.....	3
1.1.3. Producción acuícola en España.....	4
1.2. Problemática de la harina de pescado .....	4
1.2.1. Alternativas al empleo de la harina de pescado en piensos para peces .....	6
1.3. Tipos de harinas empleadas en piensos.....	6
1.3.1. Fuentes de proteína animal .....	6
1.3.2. Fuentes de proteína vegetal .....	8
1.3.3. Fuentes de proteína alternativa .....	9
1.4. La llisa ( <i>Mugil cephalus</i> ) .....	9
1.4.1. Descripción de la especie.....	9
1.4.2. Producción .....	10
1.4.3. Comercio.....	11
1.4.4. Estudios sobre la llisa.....	11
2. JUSTIFICACIÓN .....	14
3. OBJETIVOS .....	14
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
4.1. Descripción de la instalación.....	15
4.2. Desarrollo experimental .....	16
4.2.1. Formulación y fabricación de los piensos .....	16
4.2.2. Recepción y mantenimiento de las llisas .....	17
4.2.3. Muestreos.....	19
4.3. Análisis de laboratorio .....	19
4.3.1. Obtención de materia seca de las muestras.....	19
4.3.2. Determinación de cenizas.....	20
4.3.3. Determinación de proteína bruta .....	20
4.3.4. Análisis de aminoácidos.....	20
5. RESULTADOS.....	22
5.1. Resultados de análisis de AA.....	22
5.2. Resultados de crecimiento y parámetros nutritivos .....	25
6. DISCUSIÓN .....	27
7. CONCLUSIONES .....	29
8. BIBLIOGRAFÍA .....	30

## Índice de tablas

Tabla 1. Especies más producidas a nivel mundial. ....	2
Tabla 2. Especies más producidas en la Unión Europea. ....	3
Tabla 3. Estudios de crecimiento de <i>M. cephalus</i> . ....	13
Tabla 4. Ingredientes y composición de los piensos formulados para <i>M. cephalus</i> . ....	17
Tabla 5. Promedio de los parámetros del Lacex. ....	18
Tabla 6. Temperatura media por mes en el Lacex desde el ingreso de las llisas. ....	18
Tabla 7. Composición en AA de las materias primas empleadas en los piensos, expresada en g AA/100 g de proteína. ....	22
Tabla 8. Composición en AA en las materias primas empleadas en los piensos, expresada en g AA/100 g de proteína. ....	23
Tabla 9. Composición en AA de los ejemplares de <i>M. cephalus</i> previos a la alimentación experimental, expresado en g AA/100 g de proteína. ....	23
Tabla 10. Composición en AA de los piensos experimentales, expresada en g AA/100 g de proteína. ....	25
Tabla 11. Registros de los pesajes realizados en los muestreos de las llisas, de agosto a noviembre. 3 líneas experimentales para cada pienso. ....	26

## Índice de figuras

Figura 1. Detalle de <i>M. cephalus</i> visto lateralmente. ....	9
Figura 2. Instalaciones del Lacex. Detalle de las dos filas de tanques. ....	15
Figura 3. Detalle del material aislante para cada tanque, junto al sistema de tuberías individual de cada uno. ....	15
Figura 4. Extruder semiindustrial de la UPV. ....	16
Figura 5. Aireadores portátiles empleados para el transporte de las llisas. ....	18
Figura 6. Detalle de los tanques de adaptación. El tanque de la derecha es perteneciente al Lacex, empleado al principio para la adaptación. ....	18
Figura 7. Detalle del HPCL de la UPV junto al ordenador donde se manejan los datos. ....	21
Figura 8. Ratios aminoacídicos (%) para AAE de las materias primas empleadas en los piensos experimentales para las llisas iniciales. ....	24
Figura 9. Parámetros de crecimiento y eficiencia nutritiva de las llisas para los piensos experimentales. ....	26

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Producción en Acuicultura

### 1.1.1. Producción acuícola Mundial

La acuicultura ha tenido una gran expansión en las dos últimas décadas, donde ha contribuido en un 46% a la producción pesquera mundial en los años 2016 y 2018, frente al 25,7% en el año 2000. La producción acuícola mundial de animales acuáticos creció, en promedio, un 5,3% anual entre los años 2001 y 2018, a excepción de los años 2017 y 2018 donde bajó debido a una disminución de la producción en China. La producción mundial está dominada por Asia, produciendo alrededor del 89% en las dos últimas décadas. En ese periodo África y América han aumentado su producción mientras que en Europa ha disminuido. Diversos países como Egipto, Chile, la India, Indonesia, Vietnam, Bangladesh y Noruega han logrado hacer notoria su participación en la producción mundial o regional en los últimos 20 años (FAO, 2020).

En 2020 la producción mundial alcanzó un total de 122,6 millones de toneladas, donde 87,5 millones estuvieron compuestos por animales acuáticos y el resto por algas principalmente marinas. El crecimiento en la producción respecto a años anteriores, a pesar de los sucesos epidemiológicos ocurridos en 2020, se debió a la expansión producida en Chile, China y Noruega, siendo los principales productores en sus respectivas regiones. Por otro lado, África experimentó un descenso debido a sus principales productores Egipto y Nigeria. Del total de la producción, 54,4 millones fueron en aguas continentales y 68,1 en marinas. (FAO, 2020). El 56,5% de la producción tiene lugar en aguas marinas y el 43,5% en aguas dulces (Apromar, 2021).

Asia domina la producción mundial debido a la basta cantidad de especies de peces, crustáceos y moluscos que produce, pero especialmente debido a la acuicultura continental de peces. Casi la mitad de toda la producción en 2019 consistió en pescado, el 46,9%, aproximadamente 56,3 millones de toneladas. En 2018, la cría a nivel mundial estuvo dominada por peces de aleta, donde 47 millones de toneladas provenían de la acuicultura continental respecto a 7,3 millones que provenían de la marina y costera. En 2018, la acuicultura continental produjo un total de 51,3 millones de toneladas de animales, suponiendo el 62,5% de la producción mundial de pescado comestible producido, en comparación con el 57,9% en 2000. La acuicultura continental se ve dominada en más de un 90% por la producción de peces, pese a que en las dos últimas décadas se ha reducido este porcentaje ligeramente debido a la introducción de nuevas especies como crustáceos (FAO, 2020).

La producción de peces continentales está dominada por países en desarrollo como China, la India e Indonesia, mientras que un pequeño número de países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), como Noruega, Chile, Japón, Reino Unido, Irlanda del Norte, Canadá y Grecia, son importantes productores de maricultura de peces, especialmente salmónidos de agua fría. (FAO, 2020).

La acuicultura marina, por el contrario, produce actualmente un mayor número de moluscos que peces. En 2018 los bivalvos representaron el 56,2% de la producción marina, mientras que peces y crustáceos marinos representaron conjuntamente el 42,5%. Esto explica que después de los peces los animales acuáticos más producidos sean los bivalvos, con 17,7 millones de toneladas en 2018 y 2019, suponiendo el 14,6% de la producción mundial. Aunque la cantidad

de moluscos marinos producidos por China hace parecer insignificante la de todos los demás productores, algunos países producen cantidades importantes de bivalvos. Entre ellos figuran Japón, España, Francia, Italia y Corea (FAO, 2020).

Los crustáceos supusieron el 8,7% de la producción mundial en 2019, con 10,5 millones de toneladas. Los camarones marinos dominan la producción de crustáceos que se suelen producir en la acuicultura costera y son una importante fuente de ingresos para varios países en desarrollo de Asia y América Latina (FAO, 2020).

La base de datos de especies producidas en todo el mundo realizada por la FAO es una estimación del número real de especies producidas, debido a que en diversos países no se registra claramente las especies producidas, la estimación oscila en unas 500 especies. Pese a este número, la producción la dominan un pequeño número de especies. (FAO, 2020; Apromar, 2021).

Las principales especies de peces producidas son carpas y la tilapia del Nilo, siguiéndoles solo una especie marina, el salmón atlántico. De crustáceos el camarón patiblanco ocupa el 52,9% de producción mundial, y de moluscos los principales son el ostión y almeja japoneses, seguidos de peines y mejillones (FAO, 2020). Las 10 especies más producidas supusieron el 50,5% de la producción total mundial en 2019, como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Especies más producidas a nivel mundial.

	Especie	Nombre científico	Toneladas
1	Laminaria japonesa	<i>Saccharina japonica</i>	12.273.519
2	Alga Eucheuma	<i>Eucheuma y Kappaphycus</i>	9.817.689
3	Ostión japonés	<i>Crassostrea gigas</i>	5.918.395
4	Carpa china	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	5.728.383
5	Camarón patiblanco	<i>Litopenaeus vannamei</i>	5.446.216
6	Carpa plateada	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	4.827.720
7	Tilapia del Nilo	<i>Oreochromis niloticus</i>	4.590.292
8	Carpa común	<i>Cyprinus carpio</i>	4.411.900
9	Almeja japonesa	<i>Ruditapes philippinarum</i>	4.028.163
10	Alga Gracilaria	<i>Gracilaria sp.</i>	3.638.554

Fuente: (FAO, 2020).

En 2018 la producción total de acuicultura sin alimentación fue de 25 millones, 8 de peces filtradores como carpas plateadas y cabezonas, y 17 de invertebrados siendo la mayoría moluscos bivalvos. En la producción de moluscos no hay consumo de pienso puesto que son animales filtradores, mientras que en el caso de ciprínidos el consumo puede ser inexistente si se producen en estanques naturales donde también se alimentan por filtración (Apromar, 2021). Sin embargo, cuando se intensifica la producción en el caso de peces más pienso van a necesitar, puesto que la zona natural no va a poder cumplir con sus demandas (Hardy, 2006). Estas especies al no ser alimentadas son del muy bajo nivel trófico y por tanto más sostenibles que especies que requieren de altas cantidades de pienso, pero representan un porcentaje pequeño, el 30,5%, de toda la producción mundial. En la **Tabla 1** se observa que las especies más producidas mundialmente son de bajo nivel trófico, pero esta producción no es representativa de la producción mundial, puesto que la mayoría de las cifras provienen de Asia y no se tiene en cuenta la producción de otros continentes (FAO, 2020).

### 1.1.2. Producción acuícola en Europa

En 2019 se produjeron en Europa 1.141.290 toneladas de productos acuícolas, por debajo de la producción de 1999. La acuicultura representa el 21,1% del volumen de la producción acuícola total, el resto es de pesca extractiva (Apromar, 2021).

España es el estado miembro de la UE con mayor producción de acuicultura, con 308.033 toneladas en 2019 (27%) seguido de Francia, Italia y Grecia. Cuando se considera valor de producción Francia es el principal debido al valor del ostión japonés, seguido de España (Apromar, 2021).

La producción total de las 10 principales especies producidas en Europa, mostradas en la **Tabla 2**, fue de 1.278.914 toneladas. Los principales productos de acuicultura son moluscos y pescados. La producción de peces significó 535.788 toneladas (46,9%) del peso total, mientras que el resto principalmente bivalvos. En la UE la acuicultura marina supuso un 75% del total, mientras que la de agua dulce supuso el 25% (Apromar, 2021). Como se puede observar, las especies de peces producidas en Europa, excepto la carpa, son especies de hábitos carnívoros, las cuales tienen altas necesidades proteicas y de proteína de alta calidad.

Tabla 2. Especies más producidas en la Unión Europea.

	Especie	Nombre científico	Toneladas
1	Mejillones	<i>Mytilus spp</i>	477.293
2	Salmón atlántico	<i>Salmo salar</i>	203.307
3	Trucha arco iris	<i>Onchorynchus mykiss</i>	191.262
4	Ostión japonés	<i>Crassostrea gigas</i>	100.187
5	Dorada	<i>Sparus aurata</i>	93.639
6	Lubina	<i>Dicentrarchus labrax</i>	84.430
7	Carpa común	<i>Cyprinus carpio</i>	73.478
8	Almeja japonesa	<i>Ruditapes philippinarum</i>	32.244
9	Atún rojo atlántico	<i>Thunnus thynnus</i>	11.665
10	Rodaballo	<i>Psetta maxima</i>	11.409

Fuente: (FAO, 2020).

El mejillón fue la especie más producida de la UE. Se producen el común y el mediterráneo, los cuales no se diferencian adecuadamente en las estadísticas. Considerando su valor de venta la primera especie es la trucha, seguida de la dorada, la lubina y el mejillón, quedando el salmón en novena posición (Apromar, 2021).

En cuanto a volumen de producción de peces, Grecia es el país de la UE en primer lugar, seguido de España con 77.066 toneladas. España contribuyó en 14,4% a la producción total en peces de la UE y a un 20% del valor total (Apromar, 2021).

En el año 2019 se cosecharon en el mundo 17.577.417 toneladas de moluscos de acuicultura. La Unión Europea aportó a esta producción 604.332 toneladas, es decir, el 3,4%. El principal país productor es España, sustentado sobre la producción de mejillón, seguido de Francia (ostras) e Italia (almejas). Estos tres países representaron en el año 2019 el 78,1% del total de la cosecha europea de moluscos de acuicultura (Apromar, 2021).

Europa tiene un gran volumen de producción de bivalvos que supone la mayoría de su producción total. El resto de la producción consiste en peces marinos carnívoros y de alto nivel trófico, lo que significa que en comparación a nivel mundial la sostenibilidad que presenta la acuicultura en Europa es baja al no producir peces de bajo nivel trófico como son los ciprínidos.

### 1.1.3. Producción acuícola en España

Para 2020 las cifras de producción de acuicultura en España son por un total de 307.168 toneladas, desglosadas en mejillón con 235.847 toneladas, lubina con 21.709 toneladas, trucha arcoíris con 19.400 toneladas y dorada con 6.588 toneladas, siendo estas producidas como principales especies (Apromar, 2021).

En 2019 estaban en funcionamiento y con producción en España un total de 5.262 establecimientos de acuicultura. De ellos, 4.980 lo eran de moluscos en acuicultura marina, consistentes en bateas y “long-lines” en los que se realizan cultivos verticales de mejillones y otros moluscos (Apromar, 2021).

Las especies producidas mediante acuicultura en aguas marinas españolas son dorada, lubina, rodaballo, corvina, lenguado, atún rojo, mejillón, almejas, ostras y abulones. Las principales especies producidas mediante acuicultura continental son la trucha arco iris, varias especies de esturiones y la tenca (Apromar, 2021).

La producción de peces marinos en España oscila entre las 39.291 toneladas de 2013 y las 53.920 toneladas en 2019. En 2020, debido a episodios climáticos y epidemiológicos ocurridos tanto en 2019 como 2020, las pérdidas de la producción fueron acusadas y se pasó de las 53.915 toneladas de 2019 a 41.911 en 2020, es decir un 22,3% menos. La Comunidad Valenciana es la de mayor producción de peces marinos en España en 2020 con 16.353 toneladas (Apromar, 2021).

La acuicultura española destaca como referencia a nivel europeo y mundial por la cantidad y calidad de su crianza de moluscos. Las diferencias interanuales no vienen condicionadas tanto por la capacidad de producción, que es estable, sino por la mayor o menor incidencia de episodios de mareas rojas que impiden la recolección regular del molusco (Apromar, 2021).

La acuicultura en España es similar a la de Europa, en parte porque figura entre los principales países productores. La producción de especies de bajo nivel trófico se resume al mejillón, mientras que el resto de la producción se resume a peces marinos con dependencia de altas cantidades de pienso (Apromar, 2021).

## 1.2. Problemática de la harina de pescado

Las harinas (HP) y aceites (AP) de pescado que se emplean para la fabricación de piensos son dependientes de las pesquerías industriales que capturan principalmente poblaciones de pequeños peces pelágicos que forman grandes cardúmenes, como son las anchoas, caballas, sardinas, capelanes y especialmente la anchoveta peruana (*Engraulis ringens*). La cantidad de peces empleada para la fabricación de estos productos ha disminuido, gracias a medidas de

sostenibilidad, desde 1994 donde se alcanzó un pico de 30 millones de toneladas. En 2018 volvió a aumentar el número de capturas debido a la anchoveta peruana. Desde 2017 se declaró que el 34,2% de las poblaciones marinas de peces están sobreexplotadas y que el 60% de poblaciones explotadas están al límite de ser insostenibles, habiendo actualmente tres cuartas partes de los stocks mundiales de pesca sobreexplotados (FAO, 2020).

Frente a un aumento de la demanda de piensos a causa del crecimiento de la acuicultura junto a una disminución de la materia prima de estos, el precio de las HP y AP ha aumentado. En consecuencia, y debido al gran volumen de pescado necesario, de 4 a 5 toneladas para la producción de 1 tonelada de pienso seco, se emplean otras fuentes para la fabricación de estos productos (Miles & Chapman, 2006). Alrededor de un 30% de las harinas y aceites actuales se producen a partir de subproductos de pescado, que consisten principalmente en cortes y restos de procesado de especies comerciales, los cuales producen, dependiendo de los restos, una HP de calidad inferior (Lall & Dumas, 2015; Hua *et al.*, 2019). En función de la región la cantidad de subproductos empleados varía, siendo Europa la que más aprovecha y América Latina la que menos (FAO, 2020).

Una gran parte de la acuicultura actual es dependiente de los piensos formulados con HP y AP, debido principalmente a las especies producidas. En Europa se produce un gran número de peces carnívoros, como son el salmón, la trucha arcoíris, la lubina, la dorada, etc. En América Latina y Asia, la producción de camarón es muy importante y se trata de una especie también carnívora. El hecho de que gran parte de las especies comerciales presenten dietas carnívoras, provoca que se requieran grandes cantidades de pescado para la fabricación de sus piensos. La cantidad de pienso varía en función de la instalación, puesto que no todas las especies presentan las mismas necesidades, y también de la fase de producción, dándose la mayoría de los piensos con alto porcentaje de HP y AP en las fases más jóvenes (Deutsch *et al.*, 2007). Debido a intensificación de la acuicultura, hay especies que no requieren piensos con HP a los que se les añade un bajo porcentaje de esta, especialmente en ciprínidos como las carpas, puesto que aumenta la velocidad de crecimiento y el rendimiento alimenticio (Hardy, 2006).

En 2016 la producción total de pienso de pescado fue de 4,5 millones de toneladas y 0,9 de aceite. En torno al 70% se emplean en acuicultura y un 23% en granjas de cerdos y pollos (FAO, 2020). En 2020 se utilizaron en España 93.881 toneladas, un 36,1% menos que el año anterior con un total de 146.829 toneladas de pienso de acuicultura. El 82,9% de la misma fue administrado a peces marinos: lubina, corvina, rodaballo, dorada, anguila y lenguado, principalmente. Y el 17,1% restante a especies continentales como trucha y esturión. La cantidad de pienso de acuicultura utilizado en España apenas suma el 1% del total de piensos de ganadería consumidos en este país (Apromar, 2021).

Junto al aumento de la producción acuícola ha aumentado el consumo de productos marinos por habitante, en una media de 1,5% anualmente. A nivel mundial, la media de consumo por habitante ha pasado de 9 kg en 1961 a 20,5 kg en 2018, debido a la mayor productividad acuícola y que acorde a las tendencias seguirá en aumento (FAO, 2020).

### 1.2.1. Alternativas al empleo de la harina de pescado en piensos para peces

La acuicultura realizada sin alimentación presenta un bajo porcentaje en la totalidad de la producción de animales acuáticos, habiendo disminuido de un 43,9% en el 2000 a un 30,5% en 2018. Los animales sin alimentación son principalmente bivalvos y ciprínidos como carpas o tilapias producidas en extensión, donde la alimentación la pueden realizar en el propio medio por filtración. Este tipo de organismos, que presentan una dieta baja o nula en fuentes de proteína animal como son las HP, son una alternativa muy sostenible frente a la producción intensiva de especies carnívoras que se realiza actualmente. Mientras que los bivalvos se producen en todas las regiones, peces filtradores se producen principalmente en Asia y unas pocas especies en América Latina y África, mientras que la producción en Europa es prácticamente nula (FAO, 2020).

Otra alternativa para contrarrestar el excesivo empleo de HP y AP es el empleo de fuentes alternativas. Las necesidades nutricionales de los peces van en función de aminoácidos (AA), por lo que el empleo de diferentes fuentes para formular dietas que presenten un perfil aminoacídico adecuado para cada especie puede ser útil para la sustitución parcial o completa de la HP. Las fuentes de proteína alternativa se han empleado tradicionalmente para abaratar costes y complementar piensos, siendo algunas de estas aceptadas en mayor o menor grado en función de las concentraciones empleadas (Hardy, 2006).

## 1.3. Tipos de harinas empleadas en piensos

La industria de la acuicultura lleva años empleando fuentes de proteínas alternativas, tanto de origen animal como vegetal, puesto que niveles balanceados de estas junto a HP puede producir una sinergia que mejore el crecimiento además de reducir costos y ser piensos más sostenibles para los ecosistemas marinos (Hardy, 2006; Miles & Chapman, 2006). Las dietas de los peces requieren de aminoácidos esenciales (AAE) y la ausencia de estos pueden generar problemas en la alimentación y en las tasas de crecimiento, repercutiendo en la calidad final del pez (Ayadi *et al.*, 2012). Los AAE más críticos son la lisina, metionina, cistina, treonina y arginina y si estos se encuentran en exceso el resto de los AAE estarán probablemente en exceso (Robaina, 1998).

Las fuentes de proteínas que se producen actualmente se pueden clasificar en fuentes de origen animal, vegetal y fuentes alternativas como pueden ser las de insecto o microorganismos (Hardy, 2006). El gran objetivo actual de la acuicultura es formular dietas que disminuyan la mayor cantidad de HP y AP posible mediante las fuentes alternativas, proporcionando a los peces los AA, grasas y nutrientes que requieren.

### 1.3.1. Fuentes de proteína animal

La HP es un producto obtenido a partir del procesamiento de especies pelágicas de pequeño tamaño, mayoritariamente de la anchoveta peruana debido a su excelente calidad para piensos. La obtención de la harina se realiza a través de la cocción, prensado, secado y molienda de los peces o subproductos de estos, separándose los productos en la harina y una mezcla de agua y aceite, de la cual se obtiene posteriormente el aceite por centrifugado. Las harinas de alta

calidad contienen entre un 60% y un 72% de proteína bruta (PB) en peso. Este tipo de harinas incorporan en la dieta una cantidad adecuada y balanceada de todos los AAE, fosfolípidos y ácidos grasos (AG) de la serie omega-3 como DHA y EPA. Estos compuestos mejoran la eficiencia alimentaria y el crecimiento, la palatabilidad, la absorción de nutrientes, la digestión y el sistema inmunitario (Miles & Chapman, 2006). La dosificación de este tipo de harinas ha de estar controlado teniendo en cuenta los AA limitantes, puesto que compensar estos mediante un exceso de harina puede ocasionar un aumento de los residuos nitrogenados que se convierten en amonio y es tóxico para los organismos acuáticos (Miles & Chapman, 2006; Jover, 2012). En función de las especies producidas las cantidades de proteína requeridas en el pienso difieren, siendo altas en peces marinos como la trucha o el salmón, 32-45%, y un poco más bajas en crustáceos como los camarones, 25-42%, mientras que en ciprínidos como las carpas y tilapias oscila entre un 5 y 7% (Miles & Chapman, 2006).

Desde hace años se han empleado fuentes de proteína animal alternativas a la HP como son la de carne y huesos (HCH), aves de corral (HSPA), sangre (HS) y plumas (HPA). Estas son inferiores en calidad a la HP debido a menor digestibilidad de proteínas y alto contenido en cenizas en el caso de las de aves y carne y huesos, y perfil aminoacídico inadecuado en el caso de las de sangre y las de plumas. Sin embargo, son más baratas que las HP y generalmente con alta palatabilidad y libres de antinutrientes (Hardy, 2006). Actualmente su nivel de inclusión en dietas para organismos acuáticos es bajo, pero se realizan estudios para aumentar las cantidades de estas harinas en los piensos.

La HSPA se procesa a partir de restos de aves no empleados en mataderos. Se emplea debido a su alto contenido en proteína, 58-64%, y a su perfil de AA similar al de la HP, a excepción de la lisina y metionina que presentan niveles más bajos (Ayadi *et al.*, 2012). Se ha podido sustituir un alto contenido de HP por esta harina complementada con lisina, metionina y fuentes vegetales en diferentes especies sin que afecte al crecimiento. En dietas de alevines de tilapia del Nilo con un 30-40% de PB, se ha sustituido totalmente la HP con un 27-47% de inclusión de HSPA (Fasakin *et al.*, 2005, mencionado en: Ayadi *et al.*, 2012) y un 30% en trucha arcoíris (El-Haroun *et al.*, 2009, mencionado en: Ayadi *et al.*, 2012). La HPA se produce mediante el hidrolizado de estas, conteniendo entre 89-92% de PB. Su uso se debe al alto contenido en proteína y a su bajo costo. En juveniles de trucha arcoíris se ha incluido en dietas sustituyendo HP en un 15% (Bureau *et al.*, 2000, mencionado en: Ayadi *et al.*, 2012). La menor sustitución de HPA por HSPA se debe a la mayor deficiencia en metionina que presenta la de plumas (Ayadi *et al.*, 2012).

En la UE el empleo de productos derivados de animales no rumiantes en piensos para peces se permitió desde 2013 (Moutinho *et al.*, 2017). La HCH presenta una baja digestibilidad, pero un perfil de AA adecuado a excepción de lisina y metionina, con un contenido de proteína cruda alrededor de 47,3-54,3% dependiendo de la fuente (Ayadi *et al.*, 2012). Se determinó que la HCH puede reemplazar hasta un 50% la HP en piensos de juveniles de dorada sin comprometer crecimiento y eficiencia alimentaria (Moutinho *et al.*, 2017). En otro estudio de trucha también se sustituyó en un 24% a la HP (Bureau *et al.*, 2000, mencionado en: Ayadi *et al.*, 2012). Sin embargo, cuando se usa HCH en dietas de algunas especies puede reducir el crecimiento, esto puede deberse a deficiencias de metionina, lisina e isoleucina, y también baja digestibilidad (Millamena, 2002, mencionado en: Ayadi *et al.*, 2012).

La HS es producida a partir del sobrante de mataderos, que se centrifuga para eliminar materiales extraños y se seca, además de eliminar patógenos. Los niveles de proteína son muy altos entre 80-98% de PB, con exceso de lisina y falta de metionina e isoleucina. También es prohibida en varios países al igual que la HCH. El rango de inclusión de la HS en piensos para peces oscila entre 1-8%, este bajo porcentaje de inclusión en la dieta es como consecuencia de su desequilibrio entre leucina e isoleucina y a la disminución de la palatabilidad por parte de los peces en piensos con altos niveles de HS (Tacon *et al.*, 2009). Por ejemplo, para la dieta de juveniles de dorada se puede sustituir hasta un 5% de la HP por HS, sin efectos en el rendimiento y características sensoriales, pero el aumento de la inclusión harina de sangre produce reducción del crecimiento por un descenso en la palatabilidad (Martínez-Llorens *et al.*, 2008).

### 1.3.2. Fuentes de proteína vegetal

Las harinas vegetales o de concentrados proteicos vegetales son las más empleadas para sustituir y complementar la HP, debido a su alta disponibilidad, sostenibilidad y bajo precio. Pese a su uso, presentan múltiples inconvenientes entre los cuales se encuentran diferencias en perfil de AAE, factores antinutricionales, baja digestibilidad, biodisponibilidad y palatabilidad debido a oligosacáridos y celulosa, no presentes en las células animales (Miles & Chapman, 2006; Daniel, 2018). Los niveles de proteína aumentan en los concentrados proteicos vegetales, sin embargo, el perfil aminoacídico no varía y sigue habiendo AAE limitantes. El aminoácido limitante en la harina soja (HSJ) y concentrado proteico de soja (CSJ) es la metionina, en el gluten de maíz es la lisina y en el gluten de trigo es la relación de lisina y arginina (Hardy, 2006). Los factores antinutricionales limitan la cantidad de estas harinas que se pueden implementar en los piensos, dependiendo de las fuentes utilizadas, puesto que afectan a la absorción y digestión de las proteínas, lo que repercute en la asimilación de AA y el crecimiento. Entre estos factores se pueden encontrar inhibidores de proteasas, lecitinas, alcaloides, y taninos (Lall & Dumas, 2015). Los factores antinutricionales pueden reducirse o anularse mediante tratamiento térmico y otros procesos, lo cual actualmente es un proceso costoso y aumenta en gran medida el precio de estas harinas (Deutsch *et al.*, 2007; Ayadi *et al.*, 2012). Debido a la falta de AA ricos en azufre como son la metionina y la lisina, las dietas experimentales que emplean fuentes vegetales y se suplementan con estos AA, han sido útiles a la hora de sustituir HP y que no haya problemas en el crecimiento, como es el caso de carpas y tilapias a excepción de sus fases juveniles y larvarias (Miles & Chapman, 2006). Por medio de la biotecnología se están desarrollando nuevas fuentes de proteína vegetal que tengan la capacidad de sustituir completamente la HP, como es el caso para las semillas oleaginosas, a las cuales se les puede modificar para que incorporen ciertos AG como los de la serie omega-3, lo cual podría sustituir el AP (Hua *et al.*, 2019).

Las macroalgas se producen mayoritariamente para consumo humano. La proporción de proteína cruda en estas es de hasta 48% según la especie. Buen perfil aminoacídico, igual al de la carne de pescado. El problema es el alto contenido en fibra por lo que no puede ser un sustitutivo total, pero en bajas concentraciones aumenta la palatabilidad (Hua *et al.*, 2019).

### 1.3.3. Fuentes de proteína alternativa

Las fuentes alternativas son fuentes diferentes a las tradicionales de origen animal y vegetal que no se emplean actualmente en la formulación de piensos de ningún tipo pero que presentan características que las hacen buenas candidatas.

Los insectos son una buena fuente de proteína, conteniendo hasta 83% de PB, pero el perfil aminoacídico varía según la especie usada, en ocasiones similar al de la carne de peces. El problema de los insectos es la quitina, antinutriente aunque en bajo contenido puede ayudar a la digestión, además de un nivel deficiente de AG. Pese a que podría ser un buen sustitutivo, el nivel de producción de insectos actual no puede suministrar a la industria y saldría más caro (Hua *et al.*, 2019).

Bacterias y levaduras contiene un contenido proteico de 45-65%, con buenos perfiles aminoacídicos. Sirven como sustitutivo incluso de especies carnívoras pese a deficiencias en metionina. Las microalgas son ya empleadas en la acuicultura para la alimentación larvaria o del alimento larvario. Con un contenido proteico del 71%, similar a plantas y animales terrestres con gran posibilidad de sustitución. La producción de estos microorganismos actualmente es demasiado costosa por lo que no son una buena alternativa económicamente (Hua *et al.*, 2019).

## 1.4. La llisa (*Mugil cephalus*)

### 1.4.1. Descripción de la especie

La llisa, pardete o mújol (*Mugil cephalus*) (**Figura 1**) es un teleósteo perteneciente a la familia de los mugílidos. Presenta un cuerpo cilíndrico y robusto, el ancho de la cabeza mayor al de la comisura bucal; labio superior delgado, y dientes labiales de la mandíbula superior pequeños, rectos y en varias líneas; la comisura bucal termina debajo del nasal posterior. Dos aletas dorsales, la primera con cuatro espinas y la segunda de 8 a 9 radios. Aleta anal con 8 radios. Aletas pectorales con 16-19 radios; axilar pectoral mide un tercio de largo de la aleta. 2 sacos pilóricos. Escamas en series laterales de 36 a 45. El color del dorso es azul verdoso, y los flancos y el abdomen pálido o plateado; escamas en el dorso y flancos alineadas para formar rayas longitudinales; mancha axilar pectoral oscura (Arias & De la Torre, 2019; Saleh, 2022).



Figura 1. Detalle de *M. cephalus* visto lateralmente.

Habita en aguas costeras en regiones tropicales y subtropicales. En el atlántico occidental se le encuentra desde Canadá hasta Brasil, incluyendo el Golfo de México. Está ausente en las Bahamas y el Caribe. En el Atlántico oriental, habita desde Francia hasta Sudáfrica, incluyendo el Mar Mediterráneo y el Mar Negro. La distribución del Pacífico oriental abarca desde el sur de

California hasta Chile. Es un pez catádro, encontrándose en ambientes estuarinos y de agua dulce. Ejemplares adultos cuyo rango de salinidad oscila de 0 a 74%, mientras que los juveniles toleran estos rangos a partir de los 4-7 cm. Los adultos forman grandes bancos cerca de la superficie en fondos arenosos o lodosos, y migran lejos de la costa para la puesta grupal. Las larvas regresan a la costa, a aguas someras para protección y alimentación. Al alcanzar los 5 cm migran a aguas ligeramente más profundas. La llisa presenta hábitos alimentarios diurnos, cuya dieta consiste en detritos, microalgas y otros organismos bentónicos como protistas e invertebrados (Harrison, 1995). El estómago es similar a una molleja al igual que el tracto gastrointestinal, para poder alimentarse de detritos. Succionan la capa superior del sedimento, eliminando detritos y microalgas. Degluten algo de sedimento para moler la comida en la molleja. También se alimentan de epífitos y epifauna del sargazo y las microalgas en interfase aire-agua. Las larvas se alimentan de pequeños crustáceos como copépodos, y larvas de mosquitos. Se consumen más alimentos de los sustratos inferiores conforme el pez madura (Saleh, 2022).

#### 1.4.2. Producción

Es una especie que ha sido producida durante siglos en estanques extensivos y semi-intensivos en varios países. La producción de subsistencia en estanques y corrales cerrados ha sido tradicional en la región del Mediterráneo, el sureste asiático, Taiwán, Japón y Hawaii. Es una especie muy importante en Egipto, donde su producción ha sido tradicional en la región del delta del Nilo durante siglos. A principios de la década de los 60 se producía con tilapia y carpa. Se han realizado policultivos en varios países incluyendo a la carpa desde hace años, como en la Federación Rusa, Israel, Filipinas, Japón y Taiwán. En Estados Unidos se produce como carnada (Saleh, 2022).

Las llisas producidas se engordan en sistemas de policultivo en estanques semi-intensivos y en encierros con redes en aguas costeras poco profundas. La llisa puede criarse en policultivo con otras especies, incluyendo carpa común, carpa herbívora, carpa plateada, tilapia del Nilo y chano, y puede criarse en aguas dulces, salobres o marinas. Los programas de alimentación y fertilización se enfocan a las otras especies y la llisa se alimenta de alimentos naturales, desechos y residuos de alimentos formulados para las otras especies. En monocultivo, la llisa se nutre a base de alimentos naturales y de subproductos de la molienda de granos y arroz (Saleh, 2022).

La mayor parte de la cría de llisa empleada en acuicultura se recolecta del medio natural, especialmente del Mediterráneo Oriental y del Sur, al igual que en el sureste asiático. Durante otoño e invierno los adultos migran al mar en grandes grupos para desovar. La fecundidad es alta, entre 0,5 y 2 millones de huevos por hembra, dependiendo de la talla. La eclosión se da a las 48 horas tras fertilización, surgiendo larvas de 2,4 mm. Cuando alcanzan de 16 a 20 mm, migran a aguas interiores donde son recolectadas para fines acuícolas desde finales de agosto a principios de diciembre (Saleh, 2022).

Los alevines se capturan mediante finas redes para llevarlos a instalaciones de crianza en granjas de engorde, donde han de aclimatarse a la salinidad. Este proceso de aclimatación y manejo es muy delicado durante las dos primeras semanas, puesto que la mortalidad puede llegar al 100%. Tras la adaptación los alevines se estabulan a altas densidades (125/m<sup>2</sup>), donde dependen de

alimentos naturales. Se abona el suelo antes de llenarlo con agua con fertilizantes animales y químicos como fosfatos y nitratos, y en ocasiones abonos vegetales a partir de arroz o trigo. Los alevines se mantienen en estanques de cría durante 4-6 meses (agosto/noviembre-abril) hasta los 10 g de peso, con temperaturas óptimas de 20 a 26°C. En la producción en viveros se ha logrado inducir el desove y la producción de crías de manera experimental y semi-comercial en Estados Unidos y en Taiwán, y se ha reportado una producción acuícola limitada de alevines en Italia, Israel y Egipto (Saleh, 2022).

La producción global de llisa producida aumentó de 25.600 toneladas en 1997 a 147.000 toneladas en 2003. La mayor parte del aumento reportado fue resultado del aumento en la producción egipcia, el principal productor con un 92% en 2003, mientras que no hay tendencias claras en la producción de otros países. La expansión futura de la producción de llisa está limitada porque depende de la disponibilidad de alevines silvestres (Saleh, 2022).

#### 1.4.3. Comercio

En la región del Mediterráneo, la llisa se vende fresca o en hielo. Los peces se venden enteros, aunque también son aceptados eviscerados. La llisa con más de un día en el mercado es considerada de menor calidad y no obtiene un buen precio, congelada tiene un valor inferior en la región y su conserva es mediante salazón. La llisa tiene un buen mercado en varios países, especialmente en la región sur y oriental del Mediterráneo. También se consume en varios países asiáticos. Sin embargo, no es un pez muy comercial en otros países, como en Europa Occidental y Estados Unidos. La mayoría de la llisa producida se consume en los países productores, donde la demanda aumenta. No existe un mercado de exportación conocido (Saleh, 2022).

#### 1.4.4. Estudios sobre la llisa

Anteriormente se han llevado a cabo estudios con mugílidos en España, principalmente sobre la llisa y otras especies de mújoles, *Chelon labrosus* y *Liza aurata*, y mayoritariamente siendo estudios sobre reproducción para conseguir cerrar el ciclo de las especies objetivo para su producción en acuicultura. Existen estudios de crecimiento centrados en la salinidad, donde se ha observado que la producción de la llisa en aguas continentales con la salinidad alrededor del 10%, el crecimiento es más efectivo, lo cual tiene que ver además con la presencia de poliquetos y microalgas que incluyen en su alimentación y se encuentran a partir de estas salinidades (De Silva & Perera., 1976; Barman *et al.*, 2005). Sobre crecimiento y dietas experimentales hay varios estudios, mostrados en la **Tabla 3**, reemplazándose la HP por fuentes proteicas vegetales y en algunos de estos complementándose la dieta con AA que son limitantes en las fuentes vegetales.

La comparación entre estudios es compleja puesto que no se han realizado las tomas de alimento con el mismo régimen, pese a que la cantidad de alimento dado haya sido similar, aparte de que la duración de los experimentos ha diferido, así como el tamaño inicial de los ejemplares, pese a que todos fuesen alevines y juveniles. En los estudios de Jana *et al.* (2012) y Kalla *et al.* (2003), los resultados obtenidos para la sustitución de la HP en porcentajes similares por harina de CSJ y CSJ procesado mediante tratamiento hidrotérmico junto a la

complementación mediante lisina y metionina han sido muy positivos, observándose que a mayor sustitución de HP los índices de crecimiento y la ganancia de peso mejoran. En estudios donde no se han empleado AA para complementar las dietas de HSJ y esta no se ha procesado para eliminar antinutrientes, la sustitución de hasta el 50% es posible, pero sigue siendo más baja que con el procesamiento de las fuentes vegetales y la adición de AA (Luzzana *et al.*, 2005; Yones, 2005). El estudio de Wassef *et al.* (2001) emplea fuentes vegetales de origen marino como es el alga *Ulva*, de la cual obtiene resultados favorables de crecimiento y digestibilidad, siendo la sustitución posible sin problemas hasta un 20%, ayudando a demás al crecimiento por medio de una mejor absorción de los nutrientes. El estudio de El-Gendy *et al.*, (2016) demuestra un buen aprovechamiento del alimento y la proteína proporcionada en las dietas con mayor concentración de harina procedente de semillas oleaginosas, sin embargo, el crecimiento es menor respecto a dietas con mayor proporción de HP.

Tabla 3. Estudios de crecimiento de *M. cephalus*.

Autor	Dieta	HP%	PB%	Proteínas sustitutivas	Días	Tomas	Pi (g)	Pf (g)	S%	TCI (SGR)	ICA (FCR)	CEC (PER)	AA
Jana <i>et al.</i> , 2012	1	19,5	40,03	HSJ procesada	70	8:00 y 16:00 5% peso corporal	0,54	1,13		1,21	1,78	1,40	Lisina y metionina
	2	13	40,25				0,55	1,18		1,29	1,68	1,48	
	3	6,5	40,25				0,54	1,29		1,44	1,59	1,56	
	4	0	40,07				0,55	1,42		1,62	1,47	1,71	
Kalla <i>et al.</i> , 2003	1	10	34,05	HSJ procesada	70	8:00-9:00 5% peso corporal	0,524	1,02		0,95	2,06	1,42	Lisina, metionina y minerales
	2	7,5	33,44				0,516	1,17		1,16	1,99	1,50	
	3	5	33,75				0,513	1,17		1,17	1,91	1,56	
	4	2,5	34,27				0,521	1,50		1,51	1,81	1,62	
	5	0	34,60				0,547	1,25		1,18	1,82	1,59	
Luzzana <i>et al.</i> , 2005	Control	13,3	31,2		56	(2/día) 4% biomasa total	1,5	4,7		2,4	4,3	0,7	
	Soja	7,8	30				1,4	4,7		2,11	4,9	0,6	
	Torula	8,8	30,2				1,7	4,3		1,67	4,5	0,61	
Wassef <i>et al.</i> , 2001	D1	35%	40,49	Harina de Ulva	120	9:00 y 14:00 (6d/s) 4% biomasa total	6,4	50,87	80	2,10	2,31	1,06	
	D2	30	40,48				6,4	55,89	90	2,20	2,09	1,21	
	D3	25	41,91				6,4	70,03	99	2,43	1,62	1,55	
	D4	20	40,90				6,4	68,82	95	2,40	1,65	1,46	
Yones, 2005	1	20	25,28	HSJ	240	2/día 3% peso corporal	17,5	288	95	1,16	2,21	1,17	
	2	10	25,5				17	292	95	1,18	2,18	1,79	
	3	5	25,33				18	270	92	1,12	2,42	1,56	
	4	0	25,90				17,5	250	90	1,10	2,66	1,49	
El-Gendy <i>et al.</i> , 2016	D1	20	35,18	Mezcla de semillas oleaginosas	180	8:00 y 14:00 (6d/s) 3% biomasa total	19,07	187,65		3,01	1,80	1,52	
	D2	15	35,16				19,2	180,39		2,96	1,72	1,58	
	D3	10	35,01				18,5	144,05		2,83	1,70	1,70	
	D4	5	35,01				18,44	143,35		2,83	1,58	1,71	
	D5	0	34,92				18,86	117,69		2,61	1,52	1,80	
Gisbert <i>et al.</i> , 2016	FM	32	36	HSJ y harina de trigo	60	5% biomasa total	0,202	0,707	78,6	2,1			Lisina y metionina
	PP50	16	35,8				0,202	0,661	73,4	1,9			
	PP75	8	35,9				0,202	0,681	71,1	1,8			

(TCI): tasa de crecimiento instantáneo; (TAD): tasa de alimentación diaria; (ICA): índice de crecimiento alimenticio; (CEC): coeficiente de eficacia del crecimiento; (Pi): peso inicial; (Pf): peso final; (S%): supervivencia.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Frente a la situación acuícola actual, para reducir la dependencia de la acuicultura de la pesca, las mejores estrategias residen en una optimización de la alimentación mediante una mejor selección de los piensos, atendiendo a las necesidades de AAE de los peces y empleando fuentes alternativas (Lall & Dumas, 2015; Hua *et al.*, 2019); así como también, la producción de especies de un menor nivel trófico a las producidas actualmente en Europa y España, con unas necesidades proteicas más bajas (Hua *et al.*, 2019). Ambas medidas, podrían no solo reducir el impacto ambiental de la pesca y la acuicultura, sino reducir también los costes de producción. La sustitución de HP por fuentes vegetales supone, además de ser una alternativa más barata, una reducción del impacto ambiental por la menor dependencia de pesquerías y por la reducción de residuos nitrogenados, limitando las excreciones de amonio de los peces al estar minimizando el exceso de AA (Jover, 2012).

Al igual que sucede con otras especies de mugílidos, la llisa es una especie conveniente para la acuicultura debido a su alimentación omnívora, la cual puede ser formulada con una alta sustitución de HP por otras fuentes proteicas alternativas de origen vegetal más económicas y sostenibles, como muestran los estudios vistos en la introducción. Además, los mugílidos son especies con bajo contenido en grasa, así como un alto rendimiento del músculo, lo que convierte a la llisa en una especie con gran potencial para productos procesados de valor agregado, que además puede incluir la utilización de otros órganos como las huevas, para producir botarga, un producto muy valorado en la cocina europea.

La introducción de una especie como la llisa en la acuicultura es ventajosa para la economía local y nacional, puesto que es una especie que se explota a bajo nivel en determinados puntos del Mediterráneo pequeñas empresas podrían incluir esta especie en sus listas y tener un mayor abanico de productos que ofrecer y empleos que crear. Al tratarse de una especie eurihalina y euriterma, su producción no solo puede realizarse en jaulas y en sistemas de recirculación, sino también en zonas controladas en espacios naturales, como es el caso de la Albufera, donde además puede complementar parte de su dieta con detritus del fondo e insectos. Al igual que otros mugílidos, al ser especies que se producen en zonas costeras y cuerpos de agua protegidos, proporcionarían más ingresos a los pescadores y acuicultores por ser productos con una certificación de producción ecológica.

## 3. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo consistió en evaluar desde un punto de vista técnico la producción en un sistema de recirculación de *M. cephalus*. Este trabajo forma parte del proyecto VaLLisa de la UPV.

Entre los objetivos específicos se encuentran:

- Evaluar el efecto de una alimentación experimental con piensos formulados con diferentes niveles de HP sobre los parámetros zootécnicos, crecimiento y eficiencia nutritiva.

- Realizar una comparativa sobre los resultados de crecimiento y eficiencia nutritiva con otros estudios de alimentación experimental con la misma especie.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. Descripción de la instalación

El lugar donde se mantuvo a los peces fue en el laboratorio externo 'Lacex', el cual forma parte del Laboratorio de Acuicultura (LAC) del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV). El sistema de recirculación se constituye por 12 tanques de 750 litros, como se puede observar en la **Figura 2**. El agua se distribuye a partir de un depósito relleno con agua marina procedente del puerto de Sagunto. Cada tanque cuenta con calentadores individuales para mantener el agua alrededor de 26°C, temperatura a la cual se espera un óptimo crecimiento de las llisas, y tuberías de entrada de agua y aire individuales. Uno de los tanques se encuentra lleno de biobolas para actuar como un biofiltro, donde crecen bacterias Nitrosomonas y Nitrobacter para oxidar el amonio generado en el sistema a nitratos. Los tanques y el sistema de tuberías se encuentran forrados con material aislante, mostrado con detalle en la **Figura 3**, para mantener una temperatura constante al encontrarse estos en el exterior, refrigerando durante el día e impidiendo la pérdida de calor por la noche. Además del forraje cada tanque cuenta con una tapa con la misma función, observables en la **Figura 2**.



Figura 2. Instalaciones del Lacex. Detalle de las dos filas de tanques.



Figura 3. Detalle del material aislante para cada tanque, junto al sistema de tuberías individual de cada uno.

## 4.2. Desarrollo experimental

### 4.2.1. Formulación y fabricación de los piensos

Durante el primer año del proyecto se analizaron diferentes materias primas candidatas a ser incorporadas en los piensos para la llisa como fuentes de proteína. Se seleccionaron materias con alta disponibilidad en el mercado y preferiblemente subproductos debido a su bajo costo. Para comprobar que el perfil de AA fuera adecuado y similar al de las llisas, se analizaron los cuerpos de las llisas iniciales y se calcularon los ratios aminoacídicos de cada una de las materias primas. Estos ratios fueron necesarios para realizar una formulación adecuada al ser una especie de la que se desconocen sus requerimientos nutricionales. Una vez seleccionadas las materias primas se procedió al diseño de los piensos. En total se formularon 4 piensos isolipídicos (10% de lípidos) en los que a medida que disminuía la cantidad de HP aumentaba el porcentaje proteico, cuya composición figura en la **Tabla 4**.

Los datos obtenidos de los ejemplares y las fuentes de proteína se emplearon para calcular los siguientes índices:

- Relación de aminoácidos (AAR %) = (AAmuestra) / (AAreferencia) \* 100.

Donde las AAmuestra y AAreferencia son los contenidos de aminoácidos en las materias primas y ejemplares respectivamente. El compute químico corresponde al valor mínimo de AAR para los AAE, es decir, al AA más limitante.

Para la fabricación de los piensos, se empleó un extruder semiindustrial de la casa Clextral modelo BC45 (**Figura 4**), situado en la fábrica de piensos de la UPV, situada junto al LAC. Se pesaron las cantidades requeridas de cada harina para cada pienso, y depositó toda la mezcla en un capazo. Una vez pesadas todas las harinas se añadieron los AA, y en un bote aparte se pesaron los aceites. En un pequeño molino mecánico, se introdujeron todos los ingredientes sólidos del pienso correspondiente. Tras accionar la máquina, se añadió uniformemente el aceite y cerró la tapa, mezclándose el contenido durante 15 minutos, tras lo cual se pausó la máquina y abrió la tapa de abajo colocando el capazo para que cayera en este el contenido.

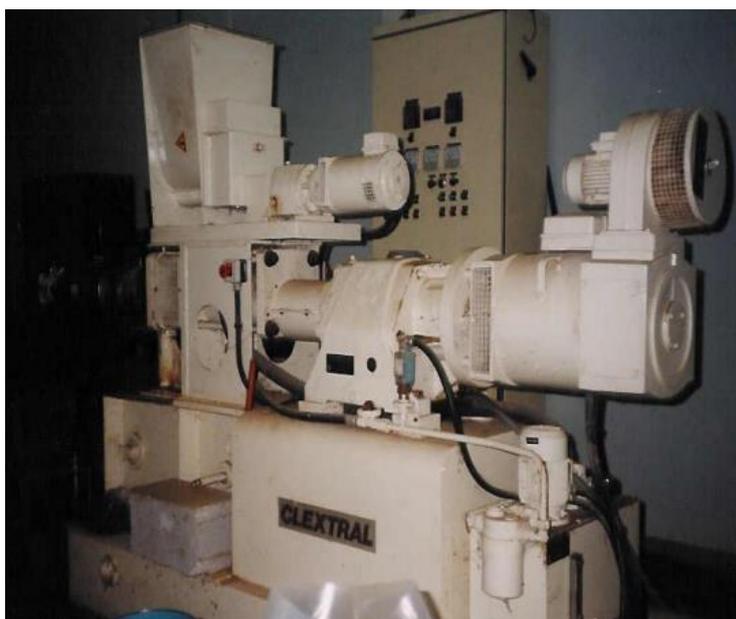


Figura 4. Extruder semiindustrial de la UPV.

Todo el contenido de la máquina tuvo que ser extraído y limpiar esta por dentro para su correcto mantenimiento, y para evitar la mezcla de otros ingredientes en posteriores mezclas.

Preparada la mezcla para el pienso, se activó el extruder y se esperó a que alcanzase una temperatura elevada. Una vez caliente se añadió la mezcla de ingredientes, que es calentada y expulsada por la salida donde se ajusta mediante brocas de diversos tamaños el diámetro que se desea de pienso. El pienso, caliente, cae en forma de tiras en una mesa donde se desmiga y deja que enfríe. Se tuvo que comprobar el color del pienso, puesto que la máquina puede contener restos de otros piensos en su interior y la mezcla de estos con el nuevo fabricado ha de ser descartada.

Tabla 4. Ingredientes y composición de los piensos formulados para *M. cephalus*.

g/kg	HP15	HP10	HP5	HPO
<b>Harina de pescado</b>	150	100	50	0
<b>Trigo</b>	352	320,5	289,5	260,5
<b>Hemoglobina de cerdo</b>	40	45	50	55
<b>Proteína hidrolizada de trigo</b>	30	40	50	60
<b>Proteína concentrada de soja</b>	50	60	70	80
<b>Proteína de patata</b>	55	65	75	85
<b>Pulpa remolacha</b>	35	40	45	50
<b>Alga Lithonutri</b>	50	50	50	50
<b>Gluten de trigo</b>	20	45	70	95
<b>Levadura de cerveza</b>	100	105	110	115
<b>Aceite pescado</b>	42	47	52,5	57,5
<b>Aceite soja</b>	23	21	18	15
<b>Vitaminas</b>	10	10	10	10
<b>Fosfato Cálcico</b>	22,5	25	27,5	30
<b>Taurina</b>	5	10	15	20
<b>Metionina</b>	4,5	5,5	5	4,5
<b>Lisina</b>	2,5	3	4,5	5
<b>Histidina</b>	3,5	3	3	2,5
<b>Lecitina de soja</b>	5	5	5	5
<b>Composición proximal</b>				
<b>PB (%)</b>	35	36,8	38,5	40,2
<b>GB (%)</b>	10	10	10	10
<b>Carbohidratos (%)</b>	40,4	39,6	38,8	38,2

(PB%): porcentaje de proteína bruta; (GB%): porcentaje de grasa bruta.

#### 4.2.2. Recepción y mantenimiento de las llisas

La prueba comenzó con la obtención de un lote de 600 juveniles de llisa procedentes de la pesca extractiva de la Asociación de Pescadores del Palmar, donde se capturaban semanalmente alevines de 25 a 30 g. Los alevines iban a ser introducidos desde el IRTA (Tarragona), donde al no haberse reproducido se tuvo que optar por el plan de contingencia. Los peces fueron trasladados al Lacex en febrero de 2022 mediante contenedores con aireadores portátiles, mostrados en la **Figura 5**, para asegurar la buena oxigenación. Estos se introducían en un tanque

de agua dulce y progresivamente se pasaron a agua salada (**Figura 6**), a lo largo de 15 días para adaptarse a la nueva salinidad. Tras un mes de aclimatación fueron distribuidos en dos tanques.



Figura 5. Aireadores portátiles empleados para el transporte de las lisas.



Figura 6. Detalle de los tanques de adaptación. El tanque de la derecha es perteneciente al Lacex, empleado al principio para la adaptación.

### Control de parámetros

Semanalmente se controló la calidad del agua por medio de una sonda multiparamétrica que indicaba salinidad, temperatura, pH y nivel de  $O_2$ , y se tomaban muestras de agua para hallar los niveles de amonio ( $NH_4^+$ ), nitratos ( $NO_3^-$ ) y nitritos ( $NO_2^-$ ) por medio de test colorimétricos. En la **Tabla 5** se muestran los rangos en los que era habitual encontrar los parámetros. En la **Tabla 6** se muestra la temperatura del agua para cada mes desde el ingreso de las lisas, al ser el parámetro que más varía en función de la época del año.

Tabla 5. Promedio de los parámetros del Lacex.

Parámetros	$NH_4^+$	$NO_2^-$	$NO_3^-$	pH	Salinidad (g/L)	T (°C)	$O_2$ (mg/L)
Rangos	0 – 0,5	0 – 25	0 – 5	$7,92 \pm 0,12$	$34 \pm 0,98$	$28 \pm 0,52$	$6 \pm 0,24$

Tabla 6. Temperatura media por mes en el Lacex desde el ingreso de las lisas.

Meses	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre
T(°C)	22,09	27,35	30,43	29,71	28,92	29,32	28,57

## Alimentación

Previo al comienzo de la alimentación experimental los peces presentaban un peso medio de 2 g. Con el fin de que los peces ganaran peso la alimentación se realizó por medio de comederos automáticos preparados cada día a las 8:30 con 28 g de pienso comercial granulado y pienso escamado de la marca 'Sera', de alto contenido en PB, para cada tanque; y manualmente proporcionando cubos de *Artemia* y *Mysis* congelados de la marca 'Ocean nutrition' a demanda en tres tomas por la mañana.

Cuando los peces alcanzaron un peso de alrededor de 7 g, suficiente para poder alimentarse de partículas de pienso más gruesas se comenzó la alimentación experimental. Se probaron los 4 piensos por triplicado para los 12 tanques, cada uno diseñado con un nivel de HP diferente, dándose alimento hasta la saciedad en tres tomas diarias, 9:00, 13:00 y 17:00.

### 4.2.3. Muestreos

Se realizaron muestreos mensuales donde se pesaron los peces y se clasificaron acorde a su tamaño en grandes y pequeños. Se realizaron desdobles en cada muestreo para distribuir a los peces en los 12 tanques, dado que inicialmente se encontraban en solo dos de estos. A partir de los datos registrados de peso se calculó la tasa instantánea de crecimiento (TCI) para cada período entre muestreos, la supervivencia, la tasa de alimentación diaria (TAD), el índice de eficacia en el crecimiento (CEC) y el índice de crecimiento alimenticio (ICA). Las diferencias entre tratamientos se evaluaron mediante ANOVA multifactorial, empleando el peso inicial como covariable. Las fórmulas correspondientes para cada índice y tasa se describen a continuación:

- TCI (%/día): Tasa de Crecimiento Instantáneo =  $100 * \ln(\text{peso final}/\text{peso inicial}) / \text{días}$ .
- TAD: Tasa de Alimentación Diaria =  $100 * \text{ingesta (g)} / \text{biomasa media (g)} * \text{días}$ .
- CEC: Coeficiente de eficacia en el crecimiento =  $\text{g incremento biomasa/g de proteína ingerida}$ .
- ICA: Índice de crecimiento alimenticio =  $\text{kg alimento ingerido/incremento biomasa}$ .

## 4.3. Análisis de laboratorio

Inicialmente se realizaron análisis de AA y AG para comprobar la idoneidad entre las materias primas empleadas para formular los piensos y el cuerpo de las llisas. Posteriormente el objetivo fue realizar este mismo análisis sobre los piensos ya formulados y sobre las llisas alimentadas con estos para realizar comparativas.

### 4.3.1. Obtención de materia seca de las muestras

Los análisis de pienso y del cuerpo de las llisas requieren que las muestras no contengan agua, por lo que hubo que someter a estas a varios procesos. Se liofilizaron muestras del músculo triturado de las llisas y de pienso molido, eliminándose así la mayoría del agua, tras lo cual se registró el peso. A continuación, se introdujeron en una estufa a 103-105°C durante 24 horas, tras lo cual se anotó de nuevo el peso y se procedió a realizar los análisis.

#### 4.3.2. Determinación de cenizas

La determinación de las cenizas sirvió para averiguar la cantidad de sales inorgánicas y posibles sustancias inorgánicas contenidas en las muestras. Una vez determinada la materia seca, los crisoles donde se colocaban las muestras en la estufa, se dejaron en la mufla de incineración a 550°C durante 5 horas, introduciéndose después en una estufa de 103-105°C durante 1 hora para minimizar el cambio de temperatura durante la espera a que se enfriase. Posteriormente se pesaron los crisoles.

#### 4.3.3. Determinación de proteína bruta

Para determinar el porcentaje de PB en cada muestra se empleó el método Kjeldhal:

1. Se deposita en un tubo de ensayo 0,5 g de muestra, una pastilla de catalizador y 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.
2. Se colocan los tubos en una unidad de digestión a 420°C, 50 minutos para las llisas y 60 minutos para los piensos hasta la aparición de un color verdoso. El N<sub>2</sub> se convierte en sulfato amónico.
3. Se deja enfriar 30 minutos y se añade 50 ml de agua destilada.
4. Se introducen los tubos en una unidad de destilación, donde una descarga de 50 ml de NaOH al 40% reduce NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NH<sub>3</sub>.
5. El destilado de NH<sub>3</sub> pasa a un frasco con 25 ml de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 1% y un indicador de verde de bromocresol y rojo de metilo.
6. Se valora con HCL 0,1N de factor conocido, y el resultado se presenta en ml gastados de HCL.
7. Para calcular la PB se emplea la siguiente fórmula:
8.  $\% \text{ PB} = \text{ml HCL} * 0,1 * \text{factor HCL} * 14 * 0,001 * 6.25 * 100 / \text{muestra} = \text{ml HCL} * 0,875 / \text{muestra}.$

#### 4.3.4. Análisis de aminoácidos

La metodología empleada para estos análisis fue obtenida a partir de protocolos dictaminados por el Instituto de Ciencia y Tecnología Ambiental (ICTA). Partiendo de muestras liofilizadas y secas, como en el caso del análisis de AG. Existen dos tipos de análisis de aminoácidos, uno para AA totales y otro para la metionina y cisteína.

1. Se pesa una cantidad de muestra que contenga aproximadamente 25 mg de PB y se introduce en un tubo Pyrex (tubo de ensayo) con tapón de rosca y sello de teflón. Se añaden 5 ml de HCl 6N y mezclar bien.
2. En la campana de extracción, se burbujea N<sub>2</sub> seco en cada tubo durante 1 minuto de manera que se desplace el aire y solo quede gas inerte, puesto que las reacciones requieren ausencia de O<sub>2</sub>. Al desplazar el gas se cierra rápidamente el tubo. Posteriormente pesar los tubos.
3. Introducir en una estufa a 110°C durante 23 horas.
4. Enfriar los tubos a temperatura ambiente. Pesar y compensar con HCl 6N si ha habido pérdida de peso significativa. En un matraz aforado de 250 ml, empleando un embudo

- y papel de filtro, se filtran los tubos ayudándose de agua miliQ (destilada pasada por la miliQ), puesto que posteriormente se enrasa con esta agua.
5. Añadir 0,5 ml de solución de patrón interno (0,5 g/100 ml de  $\alpha$ -aminobutírico en HCl 0,1N (pesar 250 mg de ABA en aforado de 50 ml y enrasar con HCl), enrasar con agua miliQ y agitar bien para mezclar.
  6. Empleando una jeringa con filtro de 0,2 micras, filtrar 1-2 ml de dicha solución en viales y emplear 10 microlitros de dicha solución para derivatizar según el método AQC.
  7. Derivatización AQC: tomar los 10 microlitros junto a otros 70 del tampón borato y agitar durante 10 segundos, añadir 20 microlitros de AQC y agitar de nuevo.
  8. Pinchar 5 microlitros de las muestras en el HPLC (**Figura 7**).



Figura 7. Detalle del HPCL de la UPV junto al ordenador donde se manejan los datos.

Para el caso de la metionina y cisteína, oxidación perfórmica:

1. Pesar una cantidad con aproximadamente 25 mg de PB en un matraz redondo de fondo plano con tapón esmerilado y cierre metálico de 100 ml.
2. Preparación de ácido perfórmico:
  - a. 1 volumen de agua oxigenada al 30%.
  - b. 9 volúmenes de ácido fórmico al 98%.
  - c. Dejar reposar 1 hora en la campana y almacenar en refrigeración al menos otra hora.
3. Añadir 4 ml del ácido perfórmico y cerrar el matraz.
4. Mantener en refrigeración mínimo 16 horas a 4°C.
5. Parar la reacción añadiendo 0,6 ml de HBr al 47% y de nuevo a la nevera 15 minutos en campana y otros 15 en nevera.
6. Evaporar a sequedad en el rotavapor:
  - a. 55°C, 60 rpm, encender 3 botones.
  - b. Poner muestra y cierre.
  - c. Bajar muestra y girar.
  - d. Con el vacío abierto, abrir un poco el agua, ir cerrando el vacío poco a poco y abriendo el agua.
  - e. Parar, subir, cerrar agua un poco, romper el vacío, cerrar el agua del todo.

7. Hidrolizar con 5 ml de HCl 6N, burbujear N<sub>2</sub> seco durante 1 minuto, pesar y secar en estufa a 110°C por 23 horas.
8. Seguir los pasos a partir del anterior para la prueba de AA totales.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Resultados de análisis de AA

En las **Tablas 7 y 8** se muestran los resultados de los análisis de AA que se realizaron sobre las materias primas seleccionadas para la fabricación de los piensos. En la **Tabla 9** se observa el análisis de AA realizado para los cuerpos de las llisas iniciales. Los datos de estas dos tablas fueron empleados para la obtención de los índices de relación de aminoácidos entre las materias y las llisas y así hallar el ratio aminoacídico.

Tabla 7. Composición en AA de las materias primas empleadas en los piensos, expresada en g AA/100 g de proteína.

Materias primas	Harina de Pescado	Harina de trigo	Hemoglobina de cerdo	Hidrolizada de trigo	Concentrada de soja	Proteína de patata	Pulpa remolacha
<b>AAE</b>							
Arginina	8,01	4,97	4,42	3,38	7,49	5,59	3,87
Histidina	3,45	2,61	7,96	2,31	2,64	2,13	3,87
Isoleucina	4,59	3,74	0,41	3,58	5,08	5,55	5,00
Leucina	7,35	7,18	14,77	7,27	8,70	10,42	8,55
Lisina	5,75	3,53	8,92	1,86	6,55	7,72	6,77
Metionina	2,65	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Treonina	4,67	3,21	3,06	2,43	4,04	5,66	5,81
Fenilalanina	6,39	5,13	6,83	5,56	5,54	6,38	5,00
Valina	5,01	4,67	9,90	4,31	5,53	6,77	9,03
<b>AAe</b>							
Alanina	5,78	3,97	8,31	2,53	4,59	4,96	5,81
Ácido aspártico	8,21	6,97	12,60	2,98	11,49	12,52	9,84
Cisteína	1,82	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Glicina	6,96	4,69	4,76	3,48	4,61	4,97	6,13
Ácido glutámico	11,67	29,68	7,65	38,21	19,66	10,65	12,42
Prolina	9,16	9,85	3,42	13,20	5,46	5,21	6,29
Serina	3,87	4,88	4,78	5,13	4,99	5,48	6,94
Tirosina	4,67	1,40	2,22	3,78	3,63	5,99	4,68
<b>PB%</b>	70,90	15,19	99,99	62,48	67,18	84,61	8,98
<b>SD</b>	2,48	3,08	1,01	0,31	0,24	1,02	0,22

(AAE): Aminoácidos esenciales; (AAe): Aminoácidos no esenciales; (PB%): porcentaje de proteína bruta; (SD): desviación estándar.

Tabla 8. Composición en AA en las materias primas empleadas en los piensos, expresada en g AA/100 g de proteína.

Materias primas	Gluten de trigo	Levadura de cerveza 40	Cerveza 100
<b>AAE</b>			
Arginina	3,18	7,24	6,66
Histidina	1,80	1,95	2,32
Isoleucina	3,71	4,78	4,91
Leucina	7,15	9,61	9,95
Lisina	1,49	5,18	5,55
Metionina	1,09	2,63	3,58
Treonina	2,41	5,51	5,35
Fenilalanina	5,32	6,75	5,56
Valina	4,02	6,27	6,04
<b>AAAnE</b>			
Alanina	2,47	6,97	8,19
Ácido aspártico	2,75	7,52	9,93
Cisteína	1,38	0,80	0,88
Glicina	3,03	6,69	5,89
Ácido glutámico	39,49	20,16	8,22
Prolina	13,35	7,44	3,37
Serina	4,53	4,55	9,99
Tirosina	2,82	2,93	2,55
<b>PB%</b>	79,05	43,59	44,92
<b>SD</b>	2,76	0,44	0,36

(AAE): Aminoácidos esenciales; (AAAnE): Aminoácidos no esenciales; (PB%): porcentaje de proteína bruta; (SD): desviación estándar.

Tabla 9. Composición en AA de los ejemplares de *M. cephalus* previos a la alimentación experimental, expresado en g AA/100 g de proteína.

AA	Peces pequeños (Peso medio 2 g)	Peces grandes (Peso medio 9,14 g)
<b>AAE</b>		
Arginina	3,91	4,28
Histidina	2,35	2,72
Isoleucina	5,02	4,86
Leucina	8,37	8,16
Lisina	9,50	9,18
Metionina	4,98	4,44
Treonina	2,43	2,49
Fenilalanina	4,78	4,67
Valina	5,39	5,25
<b>AAAnE</b>		
Alanina	6,11	6,48
Ácido aspártico	9,63	9,94
Cisteína	1,63	1,33
Glicina	7,93	8,72
Ácido glutámico	14,78	14,10
Prolina	4,91	5,38
Serina	3,91	3,97
Tirosina	4,35	4,05
<b>Suma total</b>	100	100
<b>PB%</b>	64,2	69,7

En la **Figura 8** se muestran los ratios aminoacídicos de las materias primas empleadas en los piensos frente a las llisas iniciales (peces pequeños) y frente a las llisas al comienzo de la alimentación experimental (peces grandes). No se apreciaron diferencias significativas entre los dos ratios, idnicando que no hay una necesidad aparente de formular dietas diferentes para los dos pesos. En el caso de las fuentes animales la HP es rica en arginina y treonina, mientras que la harina de hemoglobina es muy rica en histidina, leucina y valina, siendo muy deficiente en isoleucina. Varias fuentes vegetales son ricas en arginina y treonina, mientras que la remolacha destaca en histidina y valina y el trigo en todas sus formas es la que mayores deficiencias presenta respecto a la mayoría de AAE. Las mayores deficiencias por parte de todas las fuentes se ecuentran en la lisina y metionina (mayoritariamente metionina), como indica el compute químico), razón por la cual se complementó el pienso con estos dos AAE, al igual que ocurre en otros estudios de alimentación con fuentes vegetales. También hay una deficiencia mayoritaria de isoleucina, la cual no es complementada en los piensos.

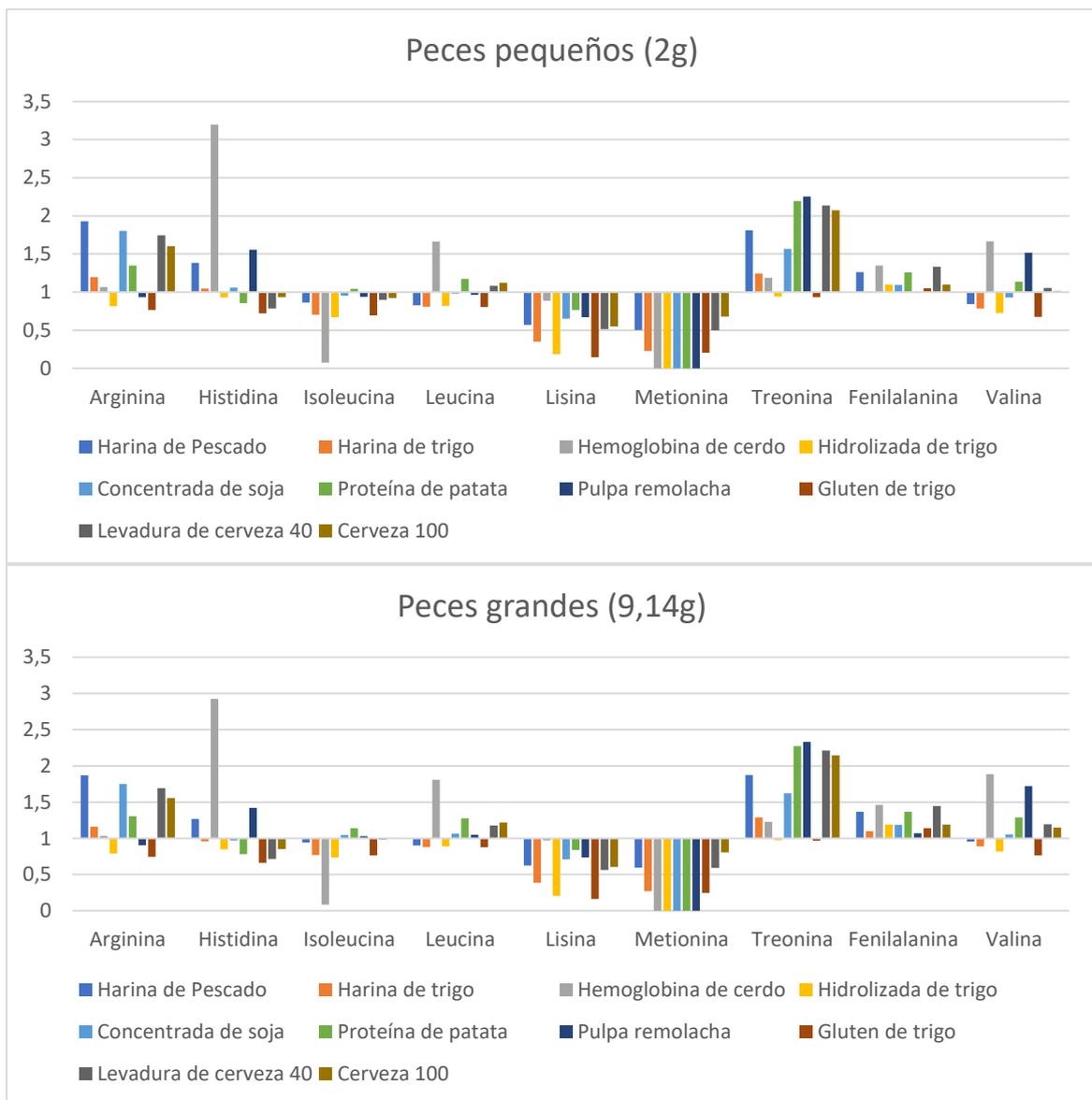


Figura 8. Ratios aminoacídicos (%) para AAE de las materias primas empleadas en los pienso experimentales para las llisas iniciales.

En la **Tabla 10** se muestran la composición de AA de los piensos experimentales. A media que los niveles de HP disminuyen en los piensos, la cantidad de AAE disminuye. El H15 es el pienso con mayor cantidad de AAE, tras lo cual le sigue el H5 a excepción de la lisina, metionina y treonina, que disminuyen al ser deficientes en materias vegetales. En cuanto a los AAnE, cisteína, ácido glutámico y prolina aumentan a menor cantidad de HP, siendo mayores siempre en el H5. Los valores de PB registrados son ligeramente mayores a los estimados inicialmente durante la formulación de los piensos.

La relación entre AAE y AAnE es similar para los 4 piensos, estando comprendida entre 0,73 y 0,88. La proporción de AAE aumenta conforme aumenta la HP, a diferencia del HP5, donde se presenta la menor proporción.

Tabla 10. Composición en AA de los piensos experimentales, expresada en g AA/100 g de proteína.

Piensos	HP0	HP5	HP10	HP15
<b>AAE</b>				
Arginina	4,45	4,04	5,26	5,70
Histidina	3,56	3,80	3,56	3,25
Isoleucina	2,96	3,51	3,47	3,55
Leucina	8,83	8,68	8,81	9,27
Lisina	5,35	5,67	6,26	6,90
Metionina	2,74	2,40	3,39	2,60
Treonina	3,72	2,98	3,93	3,96
Fenilalanina	2,27	5,34	5,06	9,27
Valina	6,13	5,92	5,97	6,32
<b>AAnE</b>				
Alanina	5,22	4,31	5,31	5,92
Ac. Aspártico	7,38	8,31	8,69	9,33
Cisteína	1,48	1,58	1,35	1
Glicina	4,61	4,44	5,08	5,50
Ac. Glutámico	22,76	22,65	19,59	18,36
Prolina	7,40	7,64	6,37	5,70
Serina	5,11	5,44	4,82	4,34
Tirosina	3,03	3,31	3,09	3,14
<b>Suma total</b>	100	100,02	100,01	100
<b>PB%</b>	40,02	38,20	36,28	35,57
<b>AAE%</b>	43,01	42,34	45,71	46,71
<b>AAnE%</b>	56,99	57,68	54,3	53,29
<b>AAE/AAnE</b>	0,75	0,73	0,84	0,88

(AAE): Aminoácidos esenciales; (AAnE): Aminoácidos no esenciales; (PB%): Porcentaje de proteína bruta;  
(AAE/AAnE): Relación entre AAE y AAnE.

## 5.2. Resultados de crecimiento y parámetros nutritivos

Los datos obtenidos en los muestreos sobre ganancia de peso para los diferentes piensos están recopilados en la **Tabla 11**. Los resultados muestran que la primera ganancia de peso fue mayor que la segunda, reduciéndose la ganancia de peso con el crecimiento. El mayor crecimiento fue registrado para los peces alimentados con HP15 para los dos muestreos registrados. Mientras que, en la primera ganancia de peso, a mayor cantidad de HP mayor crecimiento había, los registros muestran que a partir del segundo muestreo los resultados no se mantienen, presentando un bajo crecimiento los peces alimentados con HP5 y HP10.

Tabla 11. Registros de los pesajes realizados en los muestreos de las llisas, de agosto a noviembre. 3 líneas experimentales para cada pienso.

Pienso	HP0			HP5			HP10			HP15		
	4-D	3-I	5-I	3-D	6-D	4-I	2-D	1-I	6-I	1-D	5-D	2-I
Tanque (LACEX)												
Nº total de peces	44	38	21	42	52	44	41	42	35	56	43	43
Biomasa tanque (g)	491	644	311	493,6	582	654	398	652	641	679	496	723
Peso 1 (g) Septiembre	7,26	11,56	11,24	6,83	7,06	11,33	6,50	11,62	11,92	6,77	6,62	11,06
Peso 2 (g) Octubre	9,69	14,78	12,85	10,22	9,48	14,14	9,24	14,28	15,97	10,13	10,36	13,73
Peso 3 (g) Noviembre	11,16	16,95	14,81	11,75	11,19	14,86	9,71	15,52	18,31	12,12	11,53	16,81
Ganancia 1 (g)	2,44	3,22	1,61	3,39	2,43	2,81	2,75	2,66	4,05	3,36	3,75	2,66
Ganancia 2 (g)	1,46	2,17	1,95	1,53	1,71	0,73	0,46	1,24	2,35	1,99	1,17	3,08

A partir de los datos de la **Tabla 11** se obtuvieron los índices de crecimiento y eficiencia nutritiva, mostrados en la **Figura 8** junto a la supervivencia. Los mejores resultados obtenidos fueron para el pienso con mayor proporción de HP, el HP15. No se aprecia una relación directa respecto a los resultados sobre la mayor o menor proporción de HP, debido a que los mejores resultados obtenidos después del HP15 pertenece al HP5. La TAD fue similar para los 4 piensos, siendo el mismo para el HP15 y el HP0. La supervivencia no presentó una relación con los piensos, puesto que las bajas sucedieron al manejar a los peces durante los muestreos. A la hora de realizar los pesajes, las llisas presentaron un comportamiento errático, saltando fuera de los tanques y siendo poco manejables debido al estrés.

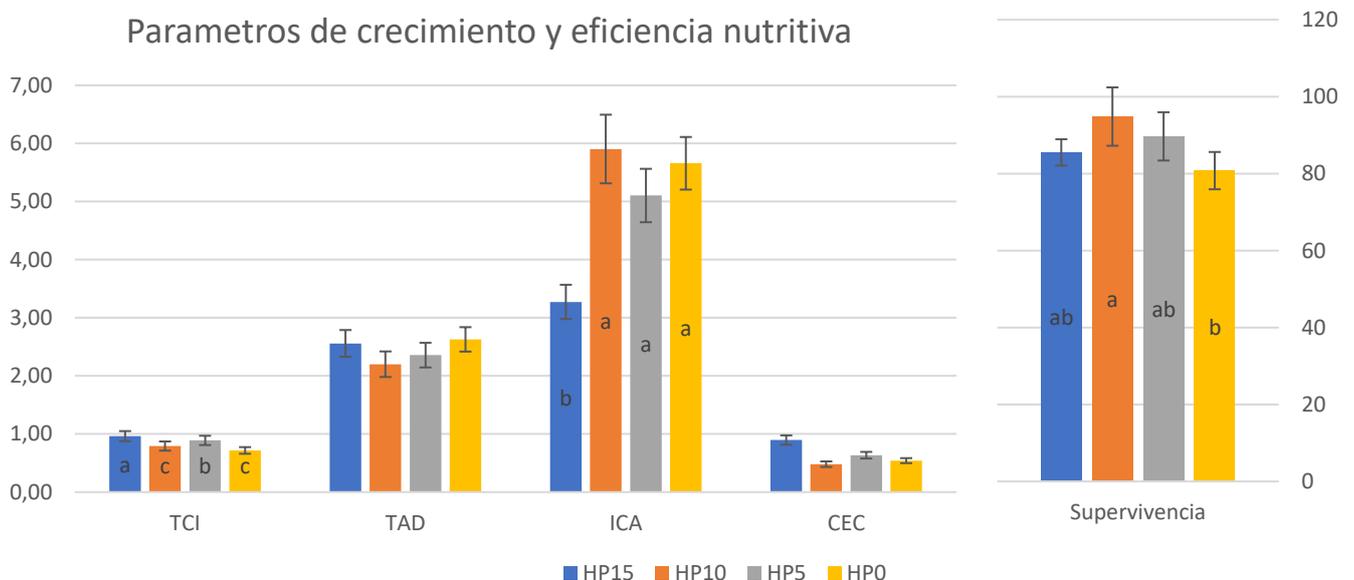


Figura 9. Parámetros de crecimiento y eficiencia nutritiva de las llisas para los piensos experimentales.

(TCI): tasa de crecimiento instantáneo; (TAD): tasa de alimentación diaria; (ICA): índice de crecimiento alimenticio; (CEC): coeficiente de eficacia del crecimiento.

## 6. DISCUSIÓN

El análisis de AA de los piensos muestra que su perfil aminoacídico cumple con la composición de AA del cuerpo de las llisas iniciales, a excepción del HPO que presenta niveles más bajos de isoleucina, lisina y metionina, AAE deficientes en fuentes vegetales y abundantes en fuentes animales. Respecto a los ratios aminoacídicos para los AAE de las materias primas, se muestran deficiencias de todas las materias en cuanto a isoleucina, lisina y metionina, especialmente para este último. Debido a este motivo, los piensos se formularon incluyendo una suplementación de los dos últimos AAE para evitar problemas de crecimiento, al igual que se ha realizado en otros estudios de alimentación como los de Kalla *et al.* (2003), Jana *et al.* (2012) y Gisbert *et al.* (2016).

La ganancia de peso y los índices de crecimiento de las llisas con los piensos experimentales fue muy bajo en comparación con las ganancias de peso registradas para otros estudios de llisa. En los estudios de Wassef *et al.* (2016) y El-Gendy *et al.* (2016) las condiciones experimentales fueron similares, con los pesos iniciales de las llisas entre 6 y 20 g, densidades y periodos de tiempo similares. Las ganancias de peso en dichos estudios fueron de 7 a 10 veces su peso inicial, siendo la principal diferencia la proporción de PB, alrededor del 40%, y de la HP, que fue de un 5 a un 15% superior. Las fuentes vegetales empleadas en estos estudios para sustituir la HP no fueron muy diferentes en cuanto a perfil nutricional y aminoacídico de las empleadas en el actual estudio. El-Gendy *et al.* (2016) empleó una mezcla de semillas oleaginosas, las cuales sin tratamiento hidrotérmico no presentan una diferencia significativa respecto a otras fuentes vegetales, y Wassef *et al.* (2001) empleó el alga *Ulva sp.*, la cual aparentemente sí que mejoró la digestibilidad y crecimiento de las llisas en proporciones de un 20%. La salinidad empleada en estos estudios fue mucho más inferior a la del proyecto actual, ya que se emplearon salinidades de en torno a 6 y 7 g/L frente a 31 g/L. Acorde a lo descrito en los estudios de Silva & Perera (1976) y Barman *et al.* (2005), una salinidad baja en torno a 10 g/L favorece una mayor presencia y actividad de enzimas proteolíticas y amilolíticas; Talukdar *et al.* (2020) también describe que con una salinidad baja el catabolismo de proteínas incrementa, lo cual podría explicar por qué las llisas de los estudios mencionados anteriormente presentaron mejores resultados de crecimiento y digestibilidad.

Pese a que la llisa se trata de una especie de hábitos omnívoros, una inclusión de HP en su dieta mayor de la que se ha realizado en este proyecto, como ha sucedido en los otros estudios mencionados, podría no solo mejorar el crecimiento y la digestibilidad, sino ser necesarios. Bishop & Miglarese (1978) reportaron varios casos de llisas alimentándose de cuerpos de otros peces junto a una elevada actividad de enzimas proteolíticas en su tracto digestivo, indicando que se tratan de peces oportunistas que pueden digerir grandes cantidades de proteína. Además de esto indicaron que aparentemente las llisas suelen requerir altos niveles de proteína antes del desarrollo gonadal.

En el estudio de Koven *et al.* (2019) afirman que niveles de proteína en los piensos alrededor del 40% que han servido para un buen crecimiento de ciprínidos como la tilapia del Nilo o la carpa común han sido efectivos en llisas frente a otros piensos con menor nivel de proteína, como sucede con los piensos de este proyecto que contienen un 35% de proteína. Miles & Chapman (2006) indican que dietas con muy alto contenido en fuentes vegetales son efectivas en tilapia, carpa y bagre para alcanzar la talla comercial, pero en estados larvarios y juveniles se requieren harinas de pescado para un crecimiento efectivo. Acorde a Koven *et al.* (2019), Silva &

Wijerayadne (1977) y El-Tawil *et al.* (2014), las larvas y juveniles de llisas presentan una dieta principalmente carnívora, que evoluciona a una dieta omnívora a medida que crecen y desarrollan una mayor actividad de enzimas como la  $\alpha$ -amilasa para poder digerir polisacáridos vegetales. Esto podría explicar que en el estudio de Yones (2005) pese a una dieta con un porcentaje de PB y HP más bajo que el de los piensos de este trabajo, el crecimiento haya sido elevado, puesto que los ejemplares iniciales pesaban una media de 17,5 g. La dieta principalmente carnívora de las larvas y primeros estadios juveniles de las llisas podría ser también una explicación a la baja ganancia de peso de las llisas de los estudios de Jana *et al.* (2012), Kalla *et al.* (2003), Luzzana *et al.* (2005) y Gisbert *et al.* (2016). Pese a estos resultados, en los trabajos de Jana *et al.* (2012) y Kalla *et al.* (2003) los mejores resultados de crecimiento y digestibilidad fueron para las dietas con menor porcentaje de HP y mayor de HSJ procesada, lo cual podría deberse a la mayor digestibilidad de esta harina por la eliminación de los factores antinutricionales y la adición de los AAE limitantes, lisina y metionina. Sin embargo, en el estudio de Gisbert *et al.* (2016) los mejores resultados son para la dieta con más HP.

En Koven *et al.* (2019) indican también que la actividad enzimática de las llisas se ve afectada por la dieta que siguen durante su etapa larvaria y la transición a juveniles, aunque mayoritariamente sea determinado genéticamente. Debido a que las llisas del Lacex fueron alimentadas con un pienso de alto contenido en proteína además de *Artemia* y *Mysis* cuando eran juveniles que no alcanzaban los 7 g, podrían haber desarrollado una mayor actividad de enzimas proteolíticas que no pudieran haber digerido de manera tan eficiente los piensos con alto contenido de fuentes vegetales. Frente a esto una posible solución planteada por Martínez *et al.* (2019) es el empleo de enzimas como las fitasas y glucanasas añadidas a la posterior fabricación del pienso para evitar su desnaturalización. Se ha comprobado su efectividad en dietas con alto contenido de materia vegetal, reduciendo además los niveles de excreción de fosfatos en las heces. En el estudio de Martínez *et al.* (2019) también se indica que un alto contenido de productos hidrolizados podría reducir la digestibilidad de los alimentos, lo cual podría haber sucedido con los piensos experimentales de este trabajo, que contiene un alto contenido de trigo hidrolizado.

Al igual que sucede con las llisas de este proyecto, estudios similares con otros mugílidos como el de Aguado-Jiménez (2022) con *C. labrosus* donde se emplean piensos similares con el mismo porcentaje de PB y HP han dado los mismos resultados. El mejor crecimiento se da en los peces alimentados con el pienso HP15, mientras que estadísticamente no se aprecian diferencias significativas en el resto, concluyendo que los peces requieren de una mayor proporción de PB y HP, puesto que, pese a que la especie pueda crecer adecuadamente con una dieta baja en HP, el nivel de PB necesita ser más elevado, como se ha mostrado para los otros estudios realizados con llisa.

La temperatura del agua desde mayo hasta noviembre no fue un factor determinante de la reducción de la ganancia de peso, puesto que esta debería de haber disminuido conforme se acercaban los meses más fríos, habiendo sucedido lo contrario. En los meses iniciales no se empleaban calentadores debido a que la temperatura externa mantenía el agua a una temperatura adecuada al estar las instalaciones en el exterior, siendo el mes más frío mayo con una temperatura de 22,09°C. Posteriormente la temperatura se reguló mediante los

calentadores y la media fue de  $28,05 \pm 1$  °C, por lo que esto no afectó al crecimiento de los peces.

Otro factor observado fue el poco apetito de las llisas frente al que presentaban inicialmente cuando tenían poco peso. Se descarta un problema de palatabilidad puesto que previo al último muestreo realizado las llisas no mostraban interés en el pienso suministrado. Este problema es similar al de su manejo durante los muestreos, donde las llisas nadaban frenéticamente al ser manipulados los tanques y saltaban fuera del agua, complicándose su manejo y alimentación a medida que fueron creciendo. Esto podría indicar que es una especie susceptible al estrés o algún parámetro del agua las alteraba, como se ha explicado sobre la salinidad, que es más alta que en la de otros estudios.

## 7. CONCLUSIONES

- Las bajas tasas de crecimiento y los bajos índices de crecimiento en comparación a otros estudios de *M. cephalus* indican que las llisas pueden ser producidas con un bajo nivel de HP, a excepción de larvas y juveniles, pero que requieren de una mayor proporción de PB en el pienso, habiendo que reformular los piensos. Los otros estudios apuntan también a que ha de reducirse la salinidad para un mejor crecimiento.
- A nivel de producción la llisa no es un pez costoso de mantener debido a su adaptabilidad a mayores rangos de salinidad y temperatura que las especies comerciales actuales. Pese a la necesidad de formular piensos más adecuados para mejorar su crecimiento, podría tratarse de una especie más económica que las actualmente producidas.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Aguado-Jiménez, F. (2022). Primera aproximación a la formulación de dietas para *Chelon labrosus*. Cádiz: Congreso Nacional de Acuicultura.
- Apromar. (2021). La Acuicultura en España. *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*.
- Arias, A., & De la Torre, M. (2019). *FAO: Mugil Cephalus, Linnaeus, 1758*. Recuperado el Noviembre de 2022, de IctioTerm: [http://www.ictioTerm.es/nombre\\_cientifico.php?nc=152](http://www.ictioTerm.es/nombre_cientifico.php?nc=152)
- Ayadi, F., Rosentrate, K., & Muthukumar, K. (2012). Alternative Protein Sources for Aquaculture Feeds. *Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition*, 4(1), 1-26.
- Barman, U., Jana, S., Garg, S., Bhatnagar, A., & Arasu, A. (2005). Effect of inland water salinity on growth, feed conversion efficiency and intestinal enzyme activity in growing grey mullet, *Mugil cephalus* (Linn.): Field and laboratory studies. *Aquaculture International*, 13, 241-256.
- Barman, U., Jana, S., Garg, S., Bhatnagar, A., & Arasu, A. (2005). Effect of inland water salinity on growth, feed conversion efficiency and intestinal enzyme activity in growing grey mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus): Field and laboratory studies. *Aquaculture International*, 13(3), 241-256.
- Bishop, J., & Miglarese, J. (1978). Carnivorous feeding in adult striped mullet. *American Society of Ichthyologist and Herpetologists*(4), 705-707.
- Bureau, D., Harris, A., Bevan, D., Simmons, L., Azevedo, P., & Cho, C. (2000). Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture*, 181(3-4), 281-291.
- Daniel, N. (2018). A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6, 164-179.
- De Silva, S., & Perera, P. (1976). Studies on the young grey mullet, *Mugil cephalus*. Effects of salinity on food intake, growth and food conversion. *Aquaculture*, 7, 327-338.
- De Silva, S., & Wijeyaratne, M. (1977). Studies on the biology of young grey mullet, *Mugil cephalus*. Food and feeding. *Aquaculture*, 6, 157-167.
- Deutsch, L., Gräslund, S., Folke, C., Troell, M., Huitric, M., Kautsky, N., & Lebel, L. (2007). Feeding aquaculture growth through globalization: Exploitation of marine ecosystems for fishmeal. *Global Environmental Change*, 17(2), 238-249.
- El-Gendy, M., Shehab El-Din, M., & Tolan, A. (2016). Studies on growth performance and health status when substituting fish meal by a mixture of oil seeds meal in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and grey mullet (*Mugil cephalus*). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 20(1), 47-58.
- El-Haroun, E., Azevedo, P., & Bureau, D. (2009). High dietary incorporation levels of rendered animal protein ingredients of performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972). *Aquaculture Society*, 33, 297-306.

- El-Tawil, N., Amer, T., & Hassan, A. (2014). Effect of cysteine and dietary protein levels on striped mullet (*Mugil cephalus*) performance. *Global Journal of Fisheries and Aquaculture*, 2(2), 139-147.
- FAO. (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción*. Roma. doi:<http://doi.org/10.4060/ca9229es>
- Fasakin, E., Serwata, R., & Davies, S. (2005). Comparative utilization of rendered animal derived products with or without composite mixture of soybean meal in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) diets. *Aquaculture*, 249(1-4), 329-338.
- Gisbert, E., Mozanzadeh, M., Kotzamanis, Y., & Estévez, A. (2016). Weaning wild flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) fry with diets with different levels of fish meal substitution. *Aquaculture*, 462, 92-100. doi:<https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.04.035>
- Hardy, R. (2006). Worldwide fish meal production outlook and the use of alternative protein meals for aquaculture. *Aquaculture research institute*, 410-419.
- Harrison, I. (1995). En W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. Carpenter, & V. Niem, *Guía FAO para identificación de especies para fines de la pesca* (Vol. 3). Roma: FAO.
- Hua, K., Cobcroft, J., Cole, A., Condon, K., Jerry, D., Mangott, A., & Strugnell, J. (2019). The future of aquatic protein: implications for protein sources in aquaculture diets. *One Earth*, 1(3), 316-329.
- Jana, S., Sudesh, Garg, S., Sabhlok, V., & Bhatnagar, A. (2012). Nutritive Evaluation of Lysine- and Methionine-Supplemented Raw Vs HeatProcessed Soybean to Replace Fishmeal as a Dietary Protein Source for Grey Mullet, *Mugil cephalus*, and Milkfish, *Chanos chanos*. *Journal of Applied Aquaculture*, 24(1), 69-80.
- Jover-Cerdá, M. (2012). Futuro de la alimentación de los peces en granjas marinas. *AquaTIC*, 37, 78-79.
- Kalla, A., Garg, S., Kaushik, C., Arasu, A., & Dinodia, G. (2003). Effect of replacement of fish meal with processed soybean on growth, digestibility and nutrient retention in *Mugil cephalus* (Linn.) fry. *Indian Journal of Fish*, 50, 509-518.
- Koven, W., Gisbert, E., Meiri-Ashkenazi, I., Nixon, O., Israeli, D., Tandler, A., & Rosenfeld, H. (2019). The effect of weaning diet type on grey mullet (*Mugil cephalus*) juvenile performance during the trophic shift from carnivory to omnivory. *Aquaculture*, 1-26.
- Lall, S., & Dumas, A. (2015). Nutritional requirements of cultured fish. *Feed and Feeding Practices in Aquaculture*, 53-109.
- Luzzana, U., Valfrè, F., Mangiarotti, M., Domeneghini, C., Radaelli, G., Moretti, V., & Scolari, M. (2005). Evaluation of different protein sources in fingerling grey mullet, *Mugil cephalus*, practical diets. *Aquaculture International*, 13(4), 291-303.
- Martínez, F., Bermúdez, L., Aznar, M., & Moyano, F. (2019). Evaluation of Enzyme additives on the nutritional use of feeds with a high content of plant ingredients for *Mugil cephalus*. *Fishes*, 4(56), 1-10.

- Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Aguado-Giménez, F., Peñaranda, D., Milián, M., Tefal, E., & Jover-Cerdá, M. (2022). Amino acids composition and protein quality evaluation of raw materials for feed formulations in mullets. *Aquaculture Europe Congress*.
- Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Moñino, A., Ader, J., Torres, M., & Jover-Cerdá, M. (2008). Blood and hemoglobin meal as protein sources in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): effects on growth, nutritive efficiency and fillet sensory differences. *Aquaculture Research*, 39, 1028-1037.
- Miles, R., & Chapman, F. (2006). Benefits of fish meal in Aquaculture diets. *University of Florida*, 12.
- Millamena, O. (2002). Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 204(1-2), 75-84.
- Moutinho, S., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Jover-Cerdá, M., Oliva-Teles, A., & Peres, H. (2017). Meat and bone meal as partial replacement for fish meal in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles: Growth, feed efficiency, amino acid utilization, and economic efficiency. *Aquaculture*(468), 271-277.
- Robaina, L. (1998). Utilización nutritiva de fuentes de proteína alternativas a la harina de pescado en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*). *Informes técnicos del instituto canario de ciencias marinas*(4).
- Saleh, M. (2022). *FAO: 'Mugil cephalus'. Cultured Aquatic Species Information Programme*. (FAO, Editor, FAO, Productor, & FAO) Recuperado el Noviembre de 2022, de FAO: [https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/mugil\\_cephalus\\_es/es](https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/mugil_cephalus_es/es)
- Tacon, A., Metian, M., & Hasan, M. (2009). Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: sources and composition. *FAO*.
- Talukdar, A., Deo, A., Sahu, N., Sardar, P., Aklakur, M., Prakash, S., & Kumar, S. (2020). Effects of dietary protein on growth performance, nutrient utilization, digestive enzymes and physiological status of grey mullet, *Mugil cephalus* L., fingerlings reared in inland saline water. *Aquaculture Nutrition*, 1-15.
- Wassef, E., El-Masry, M., & Mikhail, F. (2001). Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L., fingerlings by feeding algal meal-based diets. *Aquaculture Research*, 32, 315-322.
- Yones, A. (2005). Partial and complete replacement of fish meal with soybean meal in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and mullet (*Mugil cephalus*) reared in polyculture system. *The Egyptian Society of Experimental Biology*, 1, 51-55.