

UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA



**EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA EN LA DIETA Y
TEMPERATURA SOBRE EL CRECIMIENTO Y EXCRECIÓN DE
NITRÓGENO AMONIAACAL TOTAL EN GOLDFISH (*Carassius
auratus*), BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO**

EDNA ROCIO RIAÑO CASTILLO

Trabajo de Grado de Pregrado para optar el título de
BIÓLOGA

Director:

HERNÁN HURTADO GIRALDO BSc PhD

Co-director:

EDWIN GÓMEZ RAMÍREZ, BSc. Esp en Acuicultura

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA APLICADA
BOGOTÁ
2013.**

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Militar Nueva Granada; a la Facultad de Ciencias Básicas y a la vicerrectoría de investigaciones por su apoyo económico en la elaboración del proyecto CIAS 8370.

Agradezco al Doctor Hernán Hurtado Giraldo por su apoyo; Ana Torres por su ayuda y especialmente a Edwin Gómez Ramírez por su enseñanza, compañía, orientación y apoyo en el desarrollo del proyecto.

Agradezco a mis padres por su gran apoyo en el transcurso de toda la carrera; a Paola Riaño y Angie Riaño por su hermandad, su gran compañía y apoyo durante toda la carrera.

A Estefany García por su apoyo y amistad, y especialmente a Tatiana Peña por su amistad y apoyo incondicional (confraternidad), no solo en el transcurso del proyecto sino de la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. RESUMEN	7
2. INTRODUCCIÒN	9
3. MARCO TEÒRICO	11
3.1. Metabolismo de compuestos nitrogenados	13
3.2. Mecanismos de transporte iónico o excreción de amonio a través de las branquias	14
3.2.1. Difusión simple de NH_3 y NH_4^+	14
3.2.2. Antiporte $\text{Na}^+ / \text{NH}_4^+$	15
3.2.3. Captura de H^+	16
3.3. Respuesta de los peces a elevadas concentraciones de NH_3	17
3.4. Efecto del nivel de proteína en el crecimiento y excreción de NAT	18
3.5. Efecto de la temperatura en el crecimiento y excreción de NAT	19
3.6. Biología de Goldfish (<i>Carassius auratus</i>)	20
3.6.1. Ecología	21
3.6.2. Morfología	22
4. OBJETIVOS	23
4.1. Objetivo general	23
4.2. Objetivos específicos	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS	24

5.1. Diseño experimental	Pág. 24
5.2. Medición de parámetros	26
5.2.1. Parámetros de crecimiento	26
5.2.2. Medición de excreción de NAT	27
5.2.3. Parámetros fisicoquímicos	28
5.3. Análisis estadístico	28
6. RESULTADOS	29
6.1. Crecimiento	30
6.2. Parámetros productivos	32
6.3. Excreción de NAT	34
6.4. Parámetros fisicoquímicos	39
7. DISCUSIÓN	41
7.1. Efecto de la temperatura y el nivel de proteína bruta en la dieta sobre el crecimiento en <i>Carassius auratus</i>	41
7.2. Efecto de la temperatura y el nivel de proteína bruta en la dieta sobre la excreción de NAT en <i>Carassius auratus</i>	47
8. CONCLUSIONES	52
9. RECOMENDACIONES	53
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	54
11. ANEXOS	67
11.1. Anexo 1	67
11.2. Anexo 2	69

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Modelo que describe la excreción y producción de amoniaco en peces teleósteos	14
Figura 2. Modelo de excreción de amonio, bajo el modelo de captura de H ⁺	17
Figura 3. Esquema anatómico de <i>C. auratus</i>	22
Figura 4. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30, 40 y 45%) y la temperatura en el agua sobre el crecimiento en peso de <i>C. auratus</i>	30
Figura 5. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30, 40 y 45%) y la temperatura en el agua sobre el crecimiento en longitud estándar de <i>C. auratus</i>	31
Figura 6. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30, 40 y 45%) y la temperatura en el agua sobre el crecimiento en longitud total de <i>C. auratus</i>	31
Figura 7. Efecto de la temperatura (23-25°C), el nivel de proteína bruta, En la dieta (30, 40 y 45%) y biomasa sobre la excreción total de NAT en <i>C. auratus</i>	35
Figura 8. . Efecto de la temperatura (16-18°C), el nivel de proteína bruta, En la dieta (30, 40 y 45%) y biomasa sobre la excreción total de NAT en <i>C. auratus</i>	36
Figura 9. Parasito de tipo <i>Gyrodactylus sp</i> encontrado en los individuos de <i>C. auratus</i>	67
Figura 10. Presencia de enfermedad bacteriana en los individuos de <i>C. auratus</i>	67
Figura 11. Centros melanomacrofagos en los principales órganos Histopatológicos	68

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tabla de conversión para conocer el % de amoniaco libre basado en pH y T°C	12
Tabla 2. Diseño experimental con los datos iniciales de peso, longitud estándar y longitud total en <i>C. auratus</i>	25
Tabla 3. Parámetros productivos para la evaluación del crecimiento de <i>C. auratus</i>	26
Tabla 4. Modelos de crecimiento en peso de <i>C. auratus</i>	32
Tabla 5. Parámetros productivos de <i>C. auratus</i> durante los 40 días y 94 días del experimento	33
Tabla 6. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30, 40 y 45%) y la temperatura en el agua sobre la tasa de excreción de NAT por individuo durante 72 horas en <i>C. auratus</i>	37
Tabla 7. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30, 40 y 45%) y la temperatura en el agua sobre la tasa de excreción de NAT por gramo de pez / hora en <i>C. auratus</i>	38
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos de los tratamientos con temperatura de 16-18°C (T1, T3 y T5)	39
Tabla 9. Parámetros fisicoquímicos de los tratamientos con temperatura de 23-25°C (T2, T4 y T6)	40
Tabla 10. Componentes de Sera-Backtopur y Sera-Costapur	69
Tabla 11. Comparación del efecto del nivel de proteína bruta sobre la excreción de NAT (mg/L /g / h)	69
Tabla 12. Comparación del efecto de temperatura en el agua sobre la excreción de NAT (mg/L /g / h)	69

1. RESUMEN

En el agua el amonio se encuentra de dos formas, que en conjunto se denomina nitrógeno amoniacal total (NAT): la forma no ionizada (NH_3) y la forma ionizada (NH_4^+). La forma no ionizada, amoniaco (NH_3), es el principal producto excretado y producto final del metabolismo proteico en los peces, siendo altamente tóxico hasta en bajas concentraciones, debido a su alta solubilidad en lípidos; su falta de carga y su fácil difusión a través de las membranas de las branquias. Además la excreción de NAT está directamente relacionada con el nivel de proteína bruta en la dieta y temperatura en el agua, es por ello que este trabajo evaluó tres niveles de proteína bruta en la dieta y dos rangos de temperatura sobre el crecimiento y la excreción de NAT en *C. auratus*, una de las principales especies de peces ornamentales comercializada en Colombia. Se evaluaron 6 tratamientos, cada uno con tres repeticiones, para un total de 18 acuarios, con un volumen de 40L. En cada unidad experimental se sembraron 10 peces por acuario (180 peces en total); se controlaron tres niveles de proteína bruta (PB): 35%, 40% y 45% y dos rangos de temperatura (16-18°C y 23-25°C). El pH se mantuvo en 6.8 ± 0.13 - 7.01 ± 0.09 , el OD >4 mg/L y la temperatura en $17.9 \pm 0.55^\circ\text{C}$ - $18.4 \pm 0.39^\circ\text{C}$ y $24.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $24.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$. Mensualmente se registro NAT y el crecimiento en peso, longitud total y estándar; con estos datos se determino la tasa de excreción de NAT y los parámetros productivos (GP, CR, TCA, FCA, K, TEP y TEA) en *C. auratus*. Semanalmente se registro los parámetros fisicoquímicos (NAT, nitrito, nitrato, GH, KH) y diariamente se controló el pH y OD para mantener las condiciones óptimas reportadas por la especie. A partir de este estudio, se logró determinar que entre los 6 tratamientos evaluados, el tratamiento con temperatura promedio $24.8 \pm 0.45^\circ\text{C}$ y nivel de proteína del 45% (tratamiento 6) alcanzó el mayor peso promedio ($10.61 \pm 4.07\text{g}$) y longitud estándar ($6.44 \pm 0.86\text{cm}$) en un periodo de tres meses; además los parámetros productivos indicaron que hubo un buen desempeño en el crecimiento del T5 y T6 (temperatura $17.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$ y $24.8 \pm 0.45^\circ\text{C}$), alimentados con proteína del 45%. Esto demuestra que entre la temperatura y el nivel de proteína bruta en la dieta, esta última afecta más el crecimiento de *C. auratus*; y para el levante de la especie en acuarios es mejor implementar una dieta con alta proteína bruta (45%) y mantener la temperatura entre 18-25°C. Adicionalmente, se encontró que el nivel de proteína tiene un efecto proporcional sobre la excreción de NAT, mientras que la temperatura no presentó un efecto proporcional sobre la excreción, lo que demuestra que entre estas dos variables el nivel de proteína bruta afecta más la excreción de NAT. También se observó en los tratamientos con temperatura alta ($24.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $24.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$) una disminución en la excreción de NAT al incrementar la biomasa, mientras que en los tratamientos de temperatura baja ($17.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $18.4 \pm 0.39^\circ\text{C}$)

no se observó esta tendencia, por lo cual nos hace pensar que además del nivel de proteína bruta, la temperatura y el peso corporal hay otras variables que pudieron haber influenciado en la excreción de NAT, como el estrés térmico. Finalmente se presentó una alta mortalidad en los tratamientos 1 y 3, siendo motivo de anulación a los 40 días del experimento; se cree que esto pudo ser causado por el efecto sinérgico de temperatura baja ($17.3\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $18.4\pm 0.39^{\circ}\text{C}$), nivel de proteína baja (30% y 40% PB), presencia del parásito *Gyrodactylus* y ataque bacteriano.

Palabras clave: *Carassius auratus*, excreción de NAT, crecimiento, sistemas cerrados de recirculación, sistemas acuapónicos temperatura y nivel de proteína.

2. INTRODUCCIÓN

En el metabolismo de aminoácidos, el grupo amino es liberado (desaminado) y transferido a otra molécula para su eliminación o reutilización (Randall, 2011). Los grupos amino que no son reutilizados en la síntesis de aminoácidos, deben ser excretados para evitar su acumulación en el plasma sanguíneo y en los tejidos del organismo (Randall, 2011). Invertebrados acuáticos, peces teleósteos y ciclóstomos, denominados organismos amoniotélicos, pueden excretar este producto del catabolismo proteico directamente en forma de amoniaco (NH_3); mientras que mamíferos, anfibios y elasmobranquios, denominados ureotélicos, pueden excretar los desechos nitrogenados en forma de urea; aves y reptiles, denominados uricotélicos, pueden excretar en forma de ácido úrico (Schmidt, 1997). Los organismos amoniotélicos utilizan esta estrategia principalmente por dos factores: primero porque es energéticamente más ventajoso, puesto que no convierten el amonio a urea y ácido úrico (Altinok & Grizzle, 2004); y segundo porque el NH_3 tiene una fácil salida a través de la membrana branquial, sin consumir energía (Sinha *et al.*, 2012).

La alta toxicidad del NH_3 se atribuye principalmente a su forma no ionizada, ya que se puede difundir fácilmente a través de las membranas de las branquias, afectando el crecimiento de la especie, cambiando la estructura de las branquias y causando hipoxia y daño en los tejidos epidérmicos (Wilkie, 1997; Sinha *et al.*, 2012). Por este motivo, en la acuicultura, especialmente en los sistemas cerrados de recirculación (SCR), se considera al NH_3 como uno de los factores que debe ser estudiado, dado que es una de las preocupaciones con respecto a la calidad del agua y al bienestar de la especie cultivada (Nereci *et al.*, 2012).

Este compuesto se estudia principalmente como NAT, el cual incluye las dos formas químicas que están en el agua (NH_4^+ y NH_3). Varios factores afectan la excreción y concentración de NH_3 en el organismo y, por ende, la concentración de NAT en el agua; estos factores son: el tamaño corporal del pez, el pH, el oxígeno disuelto, la ración de comida, el nivel de proteína en la dieta y la temperatura del agua (Wood, 2001; Vásquez, 2004; Ilmo, 2009). Teniendo en cuenta que la proteína interviene en la producción de NAT y es uno de los principales nutrientes de la dieta su estudio es importante, pues contribuye en la regeneración y formación de nuevos tejidos (función estructural) y puede afectar en el rendimiento del crecimiento de la especie (Vásquez, 2004; Ilmo, 2009). Además, se ha demostrado que la tasa de excreción y el crecimiento aumentan con el incremento del nivel de proteína bruta en la dieta (Merino *et al.*, 2007; Sun & Chen, 2009). Así mismo, la temperatura es un factor que afecta directamente a los

peces teleósteos por ser organismos ectotérmicos, donde a medida que incrementa la temperatura también aumenta la tasa metabólica y, por consiguiente, aumenta el consumo del alimento, la tasa de excreción y el crecimiento (Ilmo, 2009).

Además conocer la cuantificación de NAT es de gran utilidad en sistemas cerrados de recirculación (SCR) y sistemas acuapónicos (sistema integrados, que combinan un SCR para la producción de peces y un sistema hidropónico para la producción de vegetales), ya que permite estimar la carga máxima en biomasa/densidad en peces, estimar la cantidad de plantas que pueden ser mantenidas en los sistemas y el tamaño de los filtros biológicos para mantener las concentraciones adecuadas de NAT (Leung *et al.*, 1999). Así mismo, permite mantener una supervivencia alta y un mejor crecimiento de la especie cultivada (Leung *et al.*, 1999).

Carassius auratus (Goldfish) es una especie ornamental con gran impacto comercial y una de la más cultivadas en América, Europa y Asia, alcanzando una producción en el 2010 de 69 t en América, 167 t en Asia y 4815 t en Europa (FAO, 2012). Así mismo, es una de las especies con alta tolerancia térmica y de fácil adaptabilidad, siendo un modelo excelente para estudios científicos en áreas de neurobiología, biología celular, inmunología, toxicología y evolución molecular (Huesa *et al.*, 2005; Gómez *et al.*, 2006; Hanington *et al.*, 2006; Komiyama *et al.*, 2009; Preuss *et al.*, 2006).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de tres niveles de proteína bruta en la dieta (30%, 40% y 45%) y dos rangos de temperatura (16-18°C y 23-25°C) sobre el crecimiento y excreción de NAT en *C. auratus*, con el fin de aportar conocimiento sobre la biología de la especie y otorgar información básica para estudios posteriores orientados en la excreción de NAT, diseño y optimización en sistemas cerrados de recirculación y sistemas acuapónicos.

3. MARCO TEÓRICO

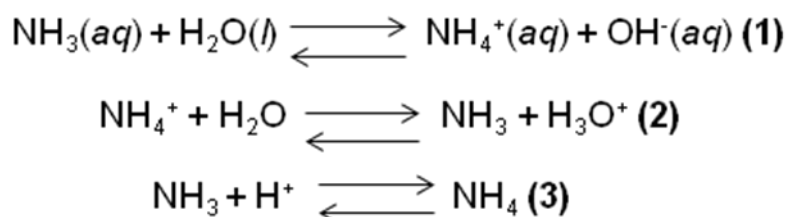
Los productos metabólicos excretados o eliminados en los vertebrados e invertebrados son principalmente productos de la respiración celular (dióxido de carbono y agua) y productos de la desaminación de aminoácidos (exceso de nitrógeno) (Brusca *et al.*, 2002). La excreción de los residuos nitrogenados están asociados con la osmorregulación, que lleva a cabo una regulación de agua y el equilibrio de iones dentro de los fluidos corporales, proceso fisiológico que también sirve para liberar residuos tóxicos; sin embargo la excreción, osmorregulación y regulación de iones no solo sirve para liberar del cuerpo residuos tóxicos sino también para mantener concentraciones de varios componentes de fluidos corporales en niveles apropiados para la actividad metabólica (Brusca *et al.*, 2002).

Una de las fuentes de nitrógeno en el sistema animal son los aminoácidos obtenidos de la digestión de proteínas. Una vez absorbidos estos aminoácidos pueden ser usados para construir nuevas proteínas o pueden ser desaminados y los residuos ser utilizados para formar otros compuestos (amoníaco, urea y ácido úrico) (Brusca *et al.*, 2002). La mayoría de peces teleósteos son amoniotélicos, puesto que el exceso de nitrógeno liberado durante la desaminación es liberado en forma de NH_3 (principal producto excretado y producto final del catabolismo proteico).

En el agua, el amonio se encuentra de dos formas: la no ionizada denominada amoníaco (NH_3) y la ionizada denominada amonio (NH_4^+); la suma de estos dos compuestos se denomina como nitrógeno amoniacal total (NAT) (Wajsbrodt *et al.*, 1993; Randall & Tsui, 2002). La forma más tóxica es el amoníaco (NH_3), ya que puede difundirse fácilmente a través de las membranas de las branquias, debido a su solubilidad en los lípidos y a su falta de carga (Sinha *et al.*, 2012), siendo un contaminante común en sistemas acuáticos (Yuxiang & Patrick, 2000; Wood, 2006). La acumulación de esta molécula en los sistemas acuícolas puede disminuir el crecimiento de la especie, debido a que causa cambios en la estructura de las branquias, interfiriendo en el proceso fisiológico de intercambio de iones; causa una mayor susceptibilidad a patógenos debido al daño de los tejidos epidérmicos y puede interferir en el metabolismo de oxígeno, ya que se une a la hemoglobina (heteroproteína encargada de transportar el oxígeno por el cuerpo), interfiriendo en la captura del oxígeno por parte de los eritrocitos, causando hipoxia y en ocasiones muerte del organismo (Wilkie, 1997).

La concentración de NAT en el agua y la excreción de NH_3 por el pez son afectadas por el nivel de proteína en la dieta de los peces, la temperatura, el pH y

especie del pez (Randall & Tsui, 2002). Estudios han reportado que a medida que aumenta el pH y la temperatura incrementa la proporción de amonio en forma NH_3 (Randall & Tsui, 2002; Yang *et al.*, 2002; García *et al.*, 2011); esto debido a que NH_4^+ es un ácido débil, lo cual en reacción con el H_2O y OH^- (pH básicos) cede electrones para formar NH_3 (Reacción 1 y 2); mientras que el NH_3 es una base débil, lo cual en reacción con el H_2O y H^+ (pH ácido) tiene la capacidad de formar enlaces de hidrógeno para formar NH_4^+ (Reacción 1 y 3) (Randall & Tsui, 2002; Shakhshiri, 2006). Es así como han demostrado que una unidad de pH puede incrementar casi diez veces la concentración de NH_3 , y el aumento de la temperatura en 5°C puede causar un incremento del 40-50% (CCME, 2010).



Como en el agua se encuentran las dos formas de amonio ($\text{NAT}=[\text{NH}_4^+]+[\text{NH}_3]$), Ruff (2009) implemento una tabla de conversión para conocer la concentración de NH_3 a partir del nitrógeno amoniacal total (NAT) (Tabla 1). Para ejemplificar esto se determinó el amoniaco de 2 mg/L de NAT, obtenido de una muestra de agua con un pH de 7.5 y a temperatura de 23°C . Al mirar la tabla de conversión (Ruff, 2009) nos arroja que 1.54% del NAT está en NH_3 , por lo cual 0.03 mg/L ($2 \text{ mg/L} \times 0.0154 = 0.03 \text{ mg/L}$) equivale la concentración real de NH_3 en la muestra.

Tabla 1. Tabla de conversión para conocer el % de amoniaco libre basado en pH y $T^\circ\text{C}$.

$^\circ\text{C}$	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
pH											
6.0	0.040	0.043	0.046	0.049	0.053	0.057	0.061	0.065	0.070	0.075	0.080
6.5	0.125	0.135	0.145	0.156	0.167	0.180	0.193	0.207	0.221	0.237	0.254
7.0	0.396	0.425	0.457	0.491	0.527	0.566	0.607	0.651	0.697	0.747	0.799
7.5	1.24	1.33	1.43	1.54	1.65	1.77	1.89	2.03	2.17	2.32	2.48
8.0	3.82	4.10	4.39	4.70	5.03	5.38	5.75	6.15	6.56	7.00	7.46
8.5	11.2	11.9	12.7	13.5	14.4	15.3	16.2	17.2	18.2	19.2	20.3

También la concentración de NH_3 se puede calcular empleando dos ecuaciones: **1.** $pK_a = 0.0901821 + 2729.92 / T$, donde pK_a es la constante de disociación y T es la temperatura en grados Kelvin; y **2.** $f = 1 / [10^{(pK_a - pH)} + 1]$, donde f es la fracción no ionizada (NH_3) del amonio total NAT (Emerson *et al.*, 1975). Al remplazar los datos de pH y T en estas dos ecuaciones obtenemos un resultado; este debe ser multiplicado por el NAT y el resultado obtenido será la proporción de NH_3 en mg/L (Emerson *et al.*, 1975).

3.1. Metabolismo de compuestos nitrogenados

Los procesos bioquímicos que permiten la eliminación de los grupos α -amino son conocidos como transaminación y desaminación (vías enzimáticas que producen amonio a partir de los aminoácidos) (Jobling, 1994). En la transaminación el grupo α amino de los aminoácidos se transfiere al ceto-glutarato, reacción catalizada por la enzima amino-transferasa, y el glutamato que resulta de esta serie de reacciones es desaminado por la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH), resultando la generación de α -ceto-glutarato y amonio (NH_4^+) (Jobling, 1994; Wilkie, 1997).

En teleósteos este proceso se lleva a cabo en el hígado, riñón y músculo, siendo el hígado el principal órgano de producción de NH_4^+ , el cual es liberado al torrente sanguíneo. La mayoría de este amonio pasa al músculo blanco y a su vez se convierte en amoniaco (NH_3), donde una parte es liberada de nuevo al torrente sanguíneo y la otra se mantiene en el músculo para la regeneración de adenosín monofosfato (AMP); el amoniaco que es liberado al torrente sanguíneo y parte del amonio liberado del hígado es transportado a las branquias para su excreción (Figura 1) (Wilkie, 1997). La distribución de NH_3 entre el fluido extracelular y el espacio intracelular del músculo blanco y su excreción entre el torrente sanguíneo y el agua esta conducida por el gradiente de presión parcial (P_{NH_3}). La difusión del NH_4^+ dentro del espacio intracelular del músculo blanco es facilitado por el gradiente eléctrico transmembranal (interior negativo) (Figura 1). Este gradiente electroquímico indica la dirección en la que cambia la concentración y el potencial eléctrico de una solución, donde la molécula con carga se moverá siguiendo la dirección de mayor gradiente electroquímico, trasladándose desde el medio de mayor concentración hacia el medio de menor concentración (Richard, 1980).

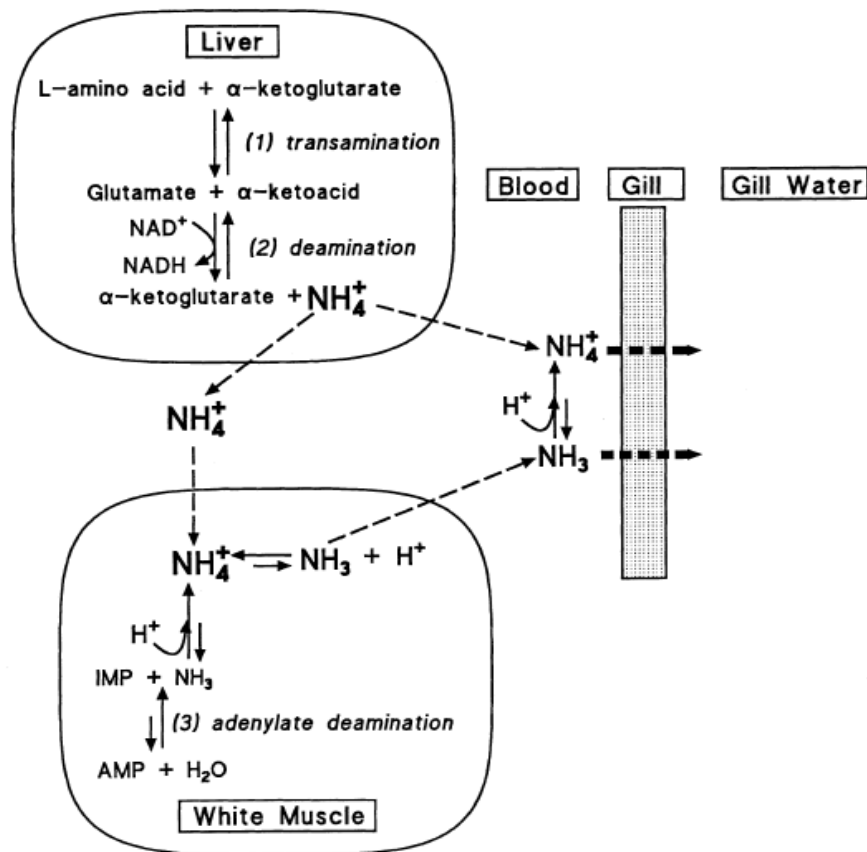


Figura 1. Modelo que describe la excreción y producción de amoníaco en peces teleosteos (Tomado de Wilkie, 1997).

3.2. Mecanismos de transporte iónico o excreción de amonio a través de las branquias

El estudio de los mecanismos de excreción y transporte de NH_4^+ y NH_3 aún permanecen en controversia, debido a la dificultad de medir o controlar la presión parcial de NH_3 y NH_4^+ y el potencial eléctrico transmembranal (Ruales *et al.*, 2010). De los mecanismos descritos los datos experimentales soportan principalmente cuatro mecanismos de excreción de amonio: Difusión simple de NH_3 , difusión simple de NH_4^+ , antiporter $\text{Na}^+ / \text{NH}_4^+$ y captura de H^+ para formar NH_4^+ , los cuales serán explicados a continuación:

3.2.1. Difusión simple de NH_3 y NH_4^+

La mayor parte de NAT que se transfiere por las branquias se hace en la forma no ionizada (NH_3), bajo un gradiente de difusión entre la sangre y el agua (Evans *et*

al., 1989; Wilkie, 1997; Ruales *et al.*, 2010). Esta excreción de NH_3 por difusión simple o pasiva ocurre bajo un gradiente favorable de presión parcial (P_{NH_3}). El gradiente de presión indica las diferencias de concentración, permitiendo así el movimiento de iones o moléculas a través de la membrana desde la zona de mayor concentración hacia la de menor concentración (Wilkie, 1997; Wood, 2006). Estudios reportan que el incremento de NH_3 en el agua está acompañado por la disminución de los mecanismos de excreción de NH_3 , por una reducción del gradiente de presión parcial (P_{NH_3}) entre el pez y el medio (Cameron & Heisler, 1983). Además observaciones y estudios realizados en *Cyprinus carpio*, *Oncorhynchus mykiss* y *Carassius auratus* reportan que a bajo pH en el agua disminuye la concentración de NH_3 en el exterior y aumenta la excreción de NH_3 branquial por el aumento del gradiente de presión parcial (P_{NH_3}) (Cameron & Heisler, 1983; Claiborne & Heisler, 1986). Sin embargo, otro estudio realizado en *Oncorhynchus mykiss* demostró que el aumento de pH en el agua incrementa la concentración de NH_3 en el exterior, debido a la pobre disponibilidad de H^+ en el medio para conjugarse y formar NH_4^+ , lo cual disminuye la tasa de flujo de NAT (Cameron & Heisler, 1983).

Por otro lado, la excreción branquial de amonio (NH_4^+) por difusión es mínima en peces de agua dulce, debido a su baja permeabilidad en el epitelio branquial (Ruales *et al.*, 2010). Esta baja permeabilidad, se debe a un mecanismo que desarrollaron, pues al encontrarse en un medio con gradientes químicos extremadamente altos, favorecían la pérdida de iones (Na^+ y Cl^-) a través de las branquias, lo que los llevo a evolucionar, cambiando la estructura de las células epiteliales, con el fin de volverse impermeables a los iones y así minimizar las pérdidas por difusión (Wilkie, 1997). Sin embargo, Knepper *et al.*, (1989) reporta que el mecanismo de difusión paracelular de NH_4^+ (transferencia de NH_4^+ a través del espacio intracelular) puede ocurrir en peces de agua dulce cuando el pez está sometido a concentraciones de NH_3 interno extremadamente altas, puesto que el NH_4^+ podría seguir el patrón de flujo del K^+ , debido a que presenta el mismo ion de carga positiva (Wilkie, 1997). De lo contrario, no ocurre este proceso, debido a que la concentración de K^+ en la sangre ($3\text{-}5 \text{ mmol l}^{-1}$) es mayor que la concentración de NH_4^+ ($0.1\text{-}0.3 \text{ mmol l}^{-1}$), por lo cual el gradiente electroquímico de la sangre al agua está más a favor del K^+ que del NH_4^+ (Wood, 2006).

3.2.2. Antiporte $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$

Antiporte $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ es un mecanismo donde la entrada de Na^+ a través de la membrana apical en la branquia es unido a la salida de NH_4^+ , reemplazando el H^+ en el antiporte electroneutral Na^+/H^+ (Ruales *et al.*, 2010). Esta hipótesis ha sido debatida por varios autores, en el cual han descartado este mecanismo en peces

de agua dulce, pues indican que para el funcionamiento del antiporte $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ en peces de agua dulce se necesitaría energía suministrada por las ATPasas para poder funcionar, debido a los bajos gradientes de Na^+ que se encuentran en el exterior con respecto a su concentración interna (Wood, 2006; Ruales *et al.*, 2010). Algunos estudios que rechazan esta hipótesis en peces de agua dulce se muestran a continuación: **1.** Avella & Bornancin (1989) no encontraron una evidencia directa de este mecanismo, pues observaron que el incremento gradual en la concentración de NH_3 (0-1mM) a un pH interno constante estimula la excreción de NH_3 , pero no la entrada de Na^+ en trucha y explica que la captación de Na^+ está relacionado con las ATPasas; **2.** Wilkie (1997) reporta que en peces de agua dulce el NH_4^+ podría competir con el Na^+ o con el K^+ de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa o con el antiporte $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ de la membrana basolateral, e indica que este intercambio está influenciado por el pH, la temperatura y presión parcial de amonio; **3.** Morgan *et al.*, (1994) y Wood & LeMoigne, (1991) reportan que la concentración de Na^+ en agua dulce son generalmente bajas (1 mmol l^{-1}), mientras que la concentración de Na^+ intracelular branquial son 5-10 veces más alta, lo cual hace que sea poco probable que el gradiente de Na^+ se dirija al interior a través de la membrana apical branquial; y **4.** Potts (1984) reporta que la difusión de NH_4^+ es más importante en peces marinos que en peces de agua dulce, ya que los teleósteos marinos tienen una alta permeabilidad branquial, lo cual facilita la absorción de Na^+ y permite la difusión de NH_4^+ , además la alta concentración externa de Na^+ en el medio marino, hace que la presencia del antiporte electroneutral Na^+/H^+ y el intercambio $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ pueda presentarse en peces marinos (Evans, 1984).

3.2.3. Captura de H^+

La difusión de NH_3 depende de la remoción constante de éste en las capas superficiales de las branquias, debido a que, la acumulación de este compuesto nitrogenado en el medio externo (agua) reduce el gradiente de presión parcial de difusión (P_{NH_3}) en el pez, lo cual puede causar cambios en la estructura de las branquias e interferir en el proceso fisiológico de intercambio de iones (Ruales *et al.*, 2010). Además de la vía de remoción por difusión continua, también está el mecanismo de unión de NH_3 con H^+ (captura) para formar NH_4^+ en la capa superficial de las branquias (remoción química) (Ruales *et al.*, 2010).

Para mantener los gradientes de difusión de NH_3 a través de las branquias es indispensable la disponibilidad de H^+ en la capa límite, pues facilita la captura del NH_3 (Wilkie, 1997). En este mecanismo se ha observado que el CO_2 juega un papel importante en la moderación del efecto tóxico del NH_3 , ya que este compuesto al reaccionar con el agua forman ácido carbónico (HCO_3^-) e H^+

(reacción catalizada por anhidrasa carbónica), donde los H^+ acidifican la capa límite de las branquias y se une al NH_3 (que se difunde pasivamente a través del epitelio branquial) formando NH_4^+ , reduciendo de esta forma la concentración permanente de NH_3 en la superficie de las branquias (Figura 2) (Wilkie, 1997; Ruales *et al.*, 2010).

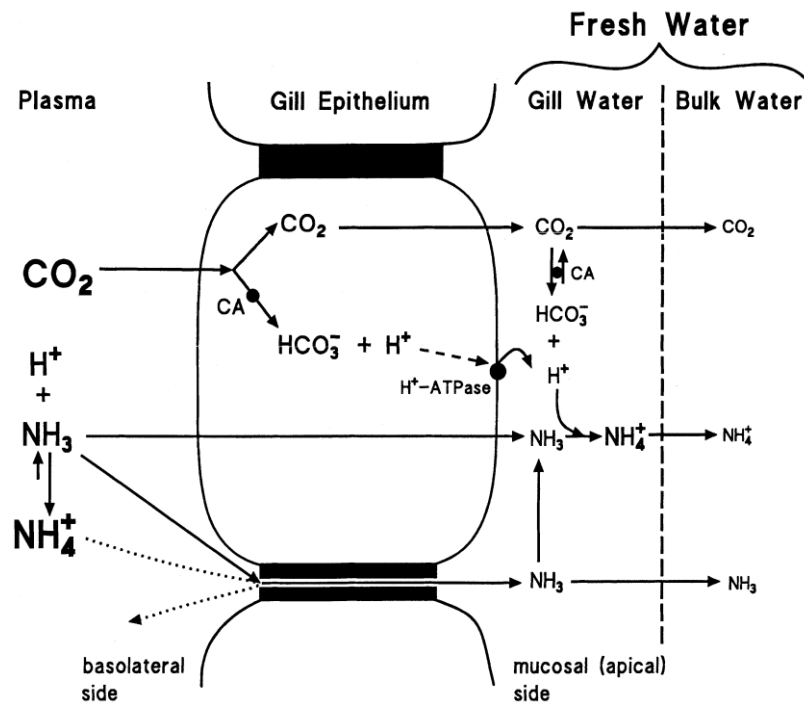


Figura 2. Modelo de excreción de amonio, bajo el mecanismo de captura de H^+ (Randall & Wrigt, 1989).

3.3. Respuesta de los peces a elevadas concentraciones de NH_3

Las elevadas concentraciones de amoníaco en el medio dan como resultado final una elevación de los niveles de NH_3 en el cuerpo del organismo (Randall & Tsui, 2002). Algunas especies de peces son tolerantes a altas concentraciones de NH_3 y tienen como estrategia mantener la excreción y/o convertir el NH_3 a sustancias menos tóxicas (Randall *et al.*, 1999; Randall & Tsui, 2002).

Una de las estrategias es convertir NH_4^+ en glutamina; la glutamina está formada de glutamato y NH_4^+ por la enzima glutamina sintetasa. La formación de 1 mol de glutamina desintoxica 2 moles de NH_4^+ (Ip *et al.*, 2001). Generalmente en los tejidos cerebrales es donde se ha encontrado alta actividad de glutamina para la

desintoxicación de NH_3 , lo cual se cree que es un mecanismo que protege los órganos sensibles de este compuesto tóxico tanto en mamíferos como en peces (Cooper & Plum, 1987). Sin embargo, este mecanismo genera un alto gasto energético, pues 1 mol de amoníaco desintoxicado requiere de 2 moles de ATP, siendo una desventaja de gran importancia (Randall & Tsui, 2002).

C. auratus (Goldfish) es un ejemplo de este mecanismo; estudios han reportado que los niveles de glutamina cerebral presenta una correlación lineal con los niveles de NH_3 ambiental (Levi *et al.*, 1974). También esta correlación se ha encontrado en otras especies de peces como: carpa común (*Cyprinus carpio*), tilapia (*Oreochromis alcalicus*) y mudskippers (se denominan anfibio-pezu de la familia Gobiidae, que pueden utilizar las aletas pectorales para caminar sobre la tierra y comúnmente llamado Zappa –*Zappa sp.* (Randall & Tsui, 2002).

Otro mecanismo de algunos peces es convertir NH_3 a urea por medio del ciclo urea ornitina. Un ejemplo de ello es la tilapia del lago Magadi (*Oreochromis alcalicus grahami*) que excreta todo los residuos de nitrógeno como urea, dado por el medio en el que habita, pues el lago Magadi alcanza alrededor de un pH 10, en el cual prevalece la producción de amonio en forma NH_3 ocasionando la muerte de otros peces, incluyendo especies cercanamente relacionadas con *O. alcalicus grahami* (Randall *et al.*, 1989). *Heteropneustes fossilis* (pez gato), un pez de agua dulce con capacidad de utilizar el aire atmosférico, es otro ejemplo, ya que puede producir urea para evitar la toxicidad de NH_3 mientras está expuesto al aire (Saha *et al.*, 2001).

Por último, otra estrategia utilizada por los peces es la reducción de producción de NH_3 , en el cual ha sido observado en varias especies de peces cuando se encuentran a pH alto y en condiciones aéreas (Lim *et al.*, 2001). Un ejemplo de ello son los mudskippers (*Periophthalmodon schlosseri* y *Boleophthalmus boddarti*) en el que reducen la tasa de excreción de NH_3 y urea cuando se encuentran en condiciones aéreas (Lim *et al.*, 2001). También Wilson *et al.*, (1998) ha observado que *Orcorhynchus mykiss* (trucha arcoíris) usa esta estrategia cuando se encuentran expuestos a pH altos (alrededor de 10).

3.4. Efecto del nivel de proteína en el crecimiento y excreción de NAT

La proteína es uno de los componentes más importante en el alimento de los peces, pues de allí provienen los aminoácidos esenciales y no esenciales para sintetizar las proteínas corporales y proporcionar energía (Yang *et al.*, 2002). En peces teleosteos se ha demostrado que el nivel de proteína es el principal factor que está relacionada con la excreción de nitrógeno, donde la excreción de

nitrógeno o excreción de NH_3 aumenta con el incremento del nivel proteínico, mostrando una relación directamente proporcional (Chakraborty & Chakraborty, 1998; Martínez, 2002).

Muchos estudios se han realizado para determinar los requerimientos proteínicos para los peces, con el fin de definir los niveles óptimos de proteína para un rápido y buen crecimiento de la especie; esto debido a que los peces, para desarrollarse adecuadamente requieren de un amplio rango de proteína bruta (PB) en la dieta, y está varía dependiendo de las condiciones ambientales, el estado fisiológico y fuente de proteína (de origen animal o vegetal) (Yang *et al.*, 2002); además se debe tener en cuenta la especie y el tamaño del pez (Martínez, 2002).

En un estudio realizado por Yang *et al.*, 2002, determinaron el efecto del nivel de proteína en el crecimiento y excreción de NAT en peces juveniles de *Bidyanus bidyanus*, donde utilizaron como principal fuente de proteína la harina de pescado blanco con 13 - 55% de proteína, los cuales fueron alimentados durante ocho semanas. Obtuvieron que la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia aumento significativamente a medida que incrementaba los niveles de proteínas hasta un 37%, mientras que no hubo diferencias significativas al ser alimentados desde el 37 al 55%. También encontraron una relación lineal entre la excreción de NAT y el nivel de proteína, donde la concentración de NAT en mg/Kg de pez incrementaba a medida que aumentaba el porcentaje de proteína en la dieta.

Martínez (2002) evaluó el efecto de la dieta y otros factores sobre la excreción de NAT y el aprovechamiento del nitrógeno por *Sparus aurata* (Dorada). Encontraron que un incremento en la temperatura y el nivel proteico de la dieta provoca un aumento significativo en la excreción de NAT, donde obtuvieron que la excreción diaria de amonio para individuos menores de 45g fue de 450-500 mg N/Kg pez día y para individuos de 115-150 gr fue de 116 mg N/Kg pez día.

3.5. Efecto de la temperatura en el crecimiento y excreción de NAT

En los peces, la temperatura es un factor importante en el metabolismo, debido a que son organismos ectotérmicos, por lo cual se desarrollan y crecen rápido cuando se encuentran dentro del rango de temperatura que es adecuado u óptimo para la especie (Fine *et al.*, 1996; Morales, 2004). Son poco los estudios que se han realizado en la interacción de este factor y su influencia en la excreción de NAT (Leung *et al.*, 1999); sin embargo se ha encontrado que la mayoría de los peces teleósteos incrementan la excreción de NAT al aumentar la temperatura dentro del medio de cultivo, lo que resulta en la elevación de las demandas metabólicas (Leung *et al.*, 1999). Esto ocurre porque al incrementarse la

temperatura aumenta la velocidad de los procesos de desaminación de los aminoácidos provenientes de las proteínas de las dietas (Leung *et al.*, 1999; Kaushik, 2000; Martínez, 2002).

En un estudio realizado por Uliano *et al.*, (2010), evaluaron el efecto de diferentes salinidades y temperatura en la excreción de NAT y urea en dos peces de agua dulce: *Gambusia* (*Gambusia affinis*) y pez cebra (*Danio rerio*), los cuales encontraron que a altas salinidades y temperatura *Gambusia* estimulaba la excreción de NAT, mientras que el pez cebra estimulaba la excreción de NAT a temperatura alta y bajas salinidades. Este estudio demostró que el estrés puede afectar la excreción de nitrógeno como respuesta adaptativa de los animales frente a cambios adversos en el ambiente.

Por otro lado hay una relación entre la temperatura y la ración de comida; se ha estudiado que a medida que aumenta la temperatura el consumo de alimento incrementa y por ende también lo hace la excreción de NAT (Wood, 2001). Esto lo demuestra un estudio realizado por Sun & Chen (2009) donde evaluaron el efecto de la ración de comida y la temperatura en el crecimiento, producción de heces y excreción de nitrógeno en bacalao (*Rachycentron canadum*), las cuales encontraron que la producción de heces y la excreción de nitrógeno están afectados significativamente con la ración de comida y la temperatura; y que la excreción de nitrógeno incrementa al aumentar el nivel de ración de comida. Además al compararlo con el efecto de la temperatura determinaron que a temperaturas más altas y a niveles de ración más altos era mayor la excreción de nitrógeno.

3.6. Biología de Goldfish (*Carassius auratus*)

C. auratus (Linnaeus, 1758), es una especie nativa de Asia oriental, que se ha establecido con éxito en toda Europa (Kottelat & Freyhof, 2007), América del Norte (Jenkins & Burkhead, 1993), América del Sur (Gómez *et al.*, 1997), Nueva Zelanda y Australia (Department of Fisheries of Western Australia, 2005). Es una especie ornamental de agua dulce que pertenece a la familia Cyprinidae y es una de las más cultivadas y comercializadas, debido a su capacidad reproductiva y su tolerancia a diferentes condiciones ambientales (Igaki & Sakagami, 2004); los registros de producción en América se inició en 1995 con 5 toneladas por año y ha incrementado alcanzando en el 2010 una producción de 69 toneladas anuales; en Europa se inició en 1980 con 30 toneladas y ha incrementado alcanzando en el 2010 una producción de 167 toneladas anuales y en Asia se inició en 1950 con 500 toneladas, alcanzando en 2010 una producción de 4815 toneladas anuales (Smarrt, 2001; Komiyama *et al.*, 2009; FAO, 2012).

C. auratus es un pez muy utilizado como modelo para investigaciones de múltiples disciplinas; se ha utilizado en áreas de biología celular, inmunología, toxicología, evolución molecular y neurobiología (Huesa *et al.*, 2005; Gómez *et al.*, 2006; Hanington *et al.*, 2006; Preuss *et al.*, 2006; Komiyama *et al.*, 2009). Además se han realizado estudios relacionados con la señalización neuroendocrina, nutrición, reproducción, comportamiento y respuesta al estrés (Chang *et al.*, 2000; Partha *et al.*, 2005; Martyniuk *et al.*, 2006; Nero *et al.*, 2006; Popesku *et al.*, 2008).

El grupo de ictiología de la Universidad Militar Nueva Granada ha realizado algunos estudios con esta especie, debido a su fácil adaptabilidad a las condiciones ambientales y alta tolerancia a la temperatura (Dinara-FAO, 2008), la cual ha permitido ser cultivada a la temperatura del agua de la Sabana de Bogotá. Algunos estudios realizados en la universidad son: “Relación entre el tamaño del cuerpo, cerebro y algunos lóbulos cerebrales en *C. auratus*” (Obando, 2010); levante de *C. auratus* en sistemas cerrados de recirculación (SCR) (Moreno *et al.*, 2011); evaluación y montaje de un sistema acuapónico *C. auratus*-*Lactuca sativa* (Ramírez *et al.*, 2009) y *C. auratus*-*C. carpio*-*Origanum vulgare* (Cifuentes *et al.*, 2012).

3.6.1. Ecología

C. auratus habita en ríos, lagos y estanques; es una especie omnívora, pues se alimentan principalmente de plancton, invertebrados bentónicos, plantas y detritus; ponen huevos en la vegetación sumergida y desovan varias veces durante el año (Man & Hodgkiss, 1981; Etnier & Starnes, 1993). Además presentan dimorfismo sexual, pero la diferencia entre estos se aprecia hasta que el pez ha alcanzado su madurez sexual. Cuando esto ocurre, la hembra, que generalmente posee un mayor tamaño, adquiere protuberancias nupciales y en el macho presentan unas pequeñas manchas blancas en las cubiertas de las branquias y también en las aletas pectorales a nivel del primer radio (Landines *et al.*, 2007).

C. auratus es una especie que puede tolerar diferentes condiciones ambientales, pero requiere de unos parámetros fisicoquímicos para su crecimiento adecuado, estos son: temperatura entre 20–28°C; concentración de oxígeno disuelto (OD) mayor a 4mg/L y el pH entre 6.5–7 (Dinara-FAO, 2008).

3.6.2. Morfología

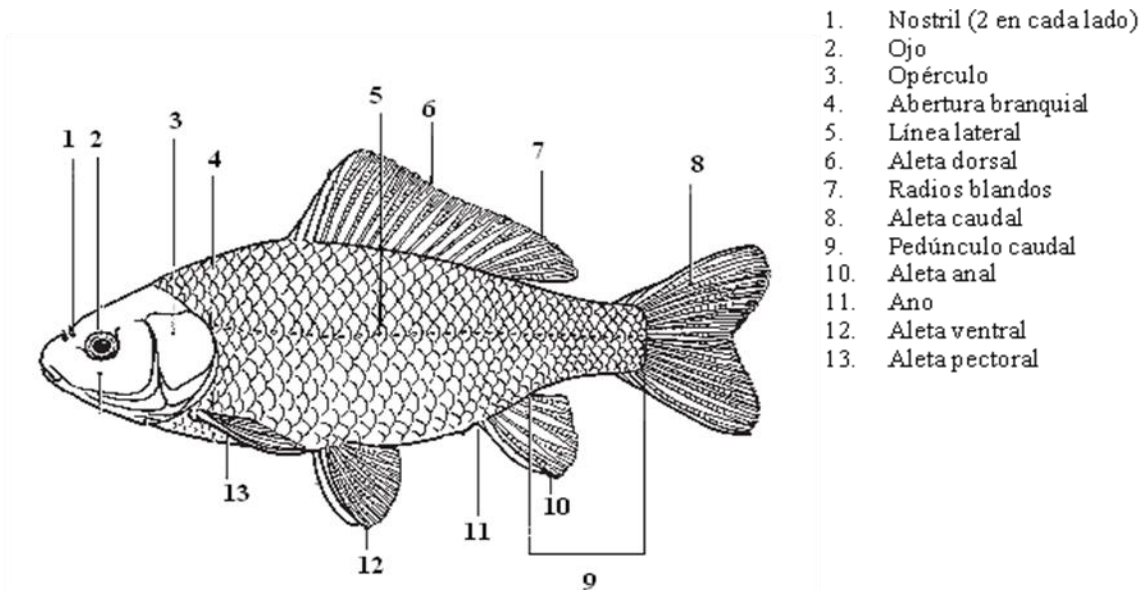


Figura 3. Esquema anatómico de las diferentes partes de *C. auratus* (Goldfish) (Tomado y modificado de Smartt, 2001).

Puede alcanzar hasta 60cm de longitud y 3kg de peso; presentan 3-4 espinas dorsales, 14-20 radios dorsales blandos, 2-3 espinas anales, 4-7 radios anales blandos, 17-19 radios en la aleta caudal. Aletas anales y dorsales con espinas óseas aserradas, la vejiga natatoria la utilizan para la transmisión del sonido; no presentan barbas, presentan maxilar superior y línea lateral completa (Smartt, 2001).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de dos rangos de temperatura y tres niveles de proteína bruta en la dieta sobre crecimiento y excreción de nitrógeno amoniacal total en *C. auratus*, bajo condiciones de laboratorio.

4.2. Objetivos Específicos:

- Evaluar el crecimiento en peso, longitud total, longitud estándar y parámetros productivos de *C. auratus* mantenidos a diferentes rangos de temperatura y alimentados con diferentes niveles de proteína bruta en la dieta.
- Evaluar varios modelos de crecimiento en *C. auratus* mantenidos a diferentes rangos de temperatura y alimentados con diferentes niveles de proteína bruta en la dieta.
- Evaluar el efecto de diferentes rangos de temperatura en el agua y niveles de proteína bruta de la dieta sobre la tasa de excreción de NAT en *C. auratus*.
- Determinar el efecto de la biomasa total sobre la excreción total de NAT y tasa de excreción de NAT en *C. auratus*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se llevo a cabo en el Laboratorio de Fisiología Animal de la Universidad Militar Nueva Granada, sede Cajicá, durante un periodo de tres meses (Marzo-Junio del 2012). Se trabajo con 180 individuos de *C. auratus* que fueron adquiridos en una tienda autorizada para la venta de mascotas, con un peso promedio de $2,70 \pm 1,10$ g y una longitud total promedio de $6,54 \pm 0,85$ cm. Estos individuos fueron mantenidos en un periodo de 15 días en sistemas cerrados de recirculación de 250L, tiempo en el cual se controlaron las condiciones fisicoquímicas del agua (NAT, nitrito, nitrato, pH, dureza general –GH- dureza de carbonatos –KH- y temperatura) y fueron alimentados con concentrado comercial Tilapia® al 30%.

5.1. Diseño experimental

Se realizo un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA), donde se evaluaron 6 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones, para un total de 18 acuarios, con un volumen de agua de 40L (60cm de largo X 40cm de ancho X 25cm de alto). En cada unidad experimental se sembraron 10 peces por acuario (densidad recomendada como óptima por Marshall (1995) para el levante en acuario de *C. auratus*).

Se evaluaron tres niveles de proteína bruta (PB): 30%, 40% y 45% y dos rangos de temperatura (16-18°C y 23-25°C). Para ello, se empleo concentrado comercial de Tilapia® para las unidades experimentales con 30% PB y concentrado comercial Truchina® para las unidades experimentales de 40% y 45% PB; los individuos fueron alimentados tres veces al día (8:00h, 12:00h y 16:00h) ajustada al 5% de la masa corporal/día. Para controlar la temperatura de 23-25°C se emplearon termostatos de 150W. La Tabla 2 muestra el diseño experimental de los tratamientos.

Tabla 2. Diseño experimental. Los datos de peso, longitud total (LT) y longitud estándar (LS) representan el valor promedio \pm la desviación estándar al inicio del experimento.

Tratamiento	PB	T°C	Peso (g)	LT (cm)	LS (cm)
T1	30%	16-18	2.92 \pm 1.28	6.45 \pm 0.79	4.21 \pm 0.58
T2	40%	23-25	2.69 \pm 0.99	6.61 \pm 0.89	4.38 \pm 0.65
T3	30%	16-18	2.36 \pm 0.92	6.28 \pm 0.79	4.14 \pm 0.73
T4	40%	23-25	2.82 \pm 1.10	6.72 \pm 1.01	4.32 \pm 0.74
T5	45%	16-18	2.60 \pm 1.12	6.58 \pm 0.88	4.27 \pm 0.77
T6	45%	23-25	2.80 \pm 1.14	6.58 \pm 0.70	4.48 \pm 0.71

El Trabajo inicio con un sistema de biofiltración por acuario, el cual era retirado cada vez que se realizaba la medición de NAT, esto con el fin de no alterar los resultados del experimento, puesto que las bacterias que se encuentran alojadas en el biofiltro transforman el NAT a nitrito y nitrato, alterando los resultados. Este control se llevo a cabo durante cinco semanas, de manera discontinua, a partir de la segunda semana los biofiltros fueron retirados, debido a que se tomo el tiempo cero en la medición de excreción de NAT; luego de esta semana continuo el sistema de biofiltración durante otras tres semanas. Después de este tiempo se retiraron por completo los sistemas de biofiltración en todos los acuarios, debido a que se inicio con un tratamiento profiláctico de Sera-Backtopur y Sera-Costapur, a causa de la presencia de signos de patógenos en los peces de algunos tratamientos (Anexo, Figura 9)

De igual manera se mantuvo un control en la calidad de agua, manteniendo los rangos óptimos reportados para la especie (Dinara-FAO 2008): pH de 6,5-7,0; oxígeno disuelto (OD) > de 4mg/L y NAT <2mg/L, con el fin de disminuir el estrés y afectar el crecimiento de los peces. Para mantener el OD > 4mg/L se mantuvieron los acuarios en aireación constante por medio de una turbina (GF 250-280 Watt) y dos difusores por unidad experimental. Además para controlar el nivel de NAT, en las semanas de medición, se realizaron recambios del 50% de agua en los acuarios que presentaron un NAT >0.50mg/L y como correctivo a la anulación de los biofiltros (quinta semana) se llevaron a cabo recambios del 20% de agua cada dos días.

5.2. Medición de parámetros

5.2.1. Parámetros de Crecimiento.

Para evaluar el crecimiento de *C. auratus* se realizó un registro de peso, longitud total (LT) y longitud estándar (LS) al inicio del experimento de los 10 individuos/acuario. Posteriormente, cada tres semanas (después de la medición de excreción de NAT) se llevo a cabo el seguimiento de estos datos por medio de la medición de 5 individuos/acuario de cada tratamiento. El registro de peso se realizó a través de una balanza gramera (OHAUS MODEL Adventurer Pro AV 2101) y la longitud total y estándar a través de un calibrador. Además de esto, se calcularon parámetros productivos (Tabla 2) al finalizar el experimento.

Tabla 3. Parámetros productivos para la evaluación del crecimiento de *C. auratus*.

Parámetros productivos	Referencia
Ganancia de peso (GP) = Peso final (g) – Peso inicial (g)	Mercado <i>et al.</i> , 2006
Tasa de crecimiento absoluto (TCA) = [(Peso final (g) – Peso inicial (g)) / (Tiempo final – Tiempo inicial)]	Pineda, 1999; Salazar & Ocampo, 2002
Crecimiento relativo (CR) = 100 * [(Peso final (g) – Peso inicial(g)) / Peso inicial (g)]	Pineda, 1999
Factor de condición K (K) = (Peso/Longitud ³) * 100	Mercado <i>et al.</i> , 2006
Factor de conversión alimenticia (FCA) = Alimento consumido (g) / Incremento de peso (g)	Salazar & Ocampo, 2002
Tasa de eficiencia proteica (TEP) = Ganancia de peso (g) / Proteína consumida (g)	Mercado <i>et al.</i> , 2006
Tasa de eficiencia alimenticia (TEA) = Incremento de peso (g) / Alimento consumido (g)	Mercado <i>et al.</i> , 2006
Supervivencia (S) = 100 * (Número de peces final / Número de peces inicial)	Salazar & Ocampo, 2002; Mercado <i>et al.</i> , 2006

5.2.2. Medición de excreción de NAT

Durante la primera semana de trabajo, los peces fueron alimentados al nivel de proteína correspondiente al tratamiento. Pasada esta semana, después de la adaptación de los organismos a las condiciones experimentales, se estableció el tiempo cero (t0), donde se midió durante tres días cada 24 horas la excreción de NAT; posteriormente se llevo a cabo un seguimiento de estos datos cada tres semanas por un periodo de tres meses -94 días- (con un total de cuatro mediciones).

Para obtener las mediciones se empleo el colorímetro Spectroquant® Multy y kits de amonio de alta sensibilidad (0.03-1.67 mg/L) MERK SK®, en el cual nos arrojaba la concentración en NAT. Con los valores obtenidos en todo el experimento se calculo la excreción total de NAT durante los tres días (Formula 1), la tasa de excreción/individuo (Formula 2) y la tasa de excreción por gramo de pez por hora (Formula 3).

$$\frac{\text{NAT total} = \Sigma(\text{NAT}_{\text{final}} - \text{NAT}_{\text{inicial}})}{3} \quad \text{Formula 1}$$

$$\text{Tasa de excreción de NAT} = (\Sigma(\text{NAT}_{\text{final}} - \text{NAT}_{\text{inicial}})) / \text{Número de individuos} \quad \text{Formula 2}$$

$$\text{Tasa de excreción por gramo de pez} = \frac{1 \times (\text{NAT}_{\text{final}} - \text{NAT}_{\text{inicial}})}{\text{Biomasa total}}$$

$$\text{Tasa de excreción por gramo de pez / hora} = \frac{\text{Tasa de excreción por gramo de pez}}{72 \text{ horas}} \quad \text{Formula 3}$$

Donde $\Sigma(\text{NAT}_{\text{final}} - \text{NAT}_{\text{inicial}})$ es la suma del NAT final (concentración NAT en mg/L al final del periodo de medición) con NAT inicial (concentración de NAT inicial en mg/L al comienzo del periodo de medición) durante los tres días (72h); y el número de individuos, es el número de individuos total o la supervivencia en el tiempo de muestreo.

5.2.3. Parámetros fisicoquímicos

Diariamente se registro el pH y la temperatura con un potenciómetro marca SCHOTT ®. Adicionalmente se midió semanalmente el oxígeno disuelto con un oxímetro modelo DO-700 de Extech Instruments® con ajuste de compensación a la altura; NAT, nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) a partir del colorímetro spectroquant® Multy, con kits de alta sensibilidad MERK® y GH, KH por medio de kits comerciales (tetra test laborett).

5.3. Análisis estadístico

Las variables respuesta (tasa de excreción de NAT, peso, longitud total, longitud estándar y parámetros productivos de *C. auratus*) fueron evaluados con la prueba de normalidad Shapiro-Wilk. Se realizaron análisis de varianza, implementando la prueba ANOVA y Tukey-Kramer (individual para cada variable de respuesta), al nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$, error tipo I), con el fin de determinar si hubo diferencias entre los tratamientos. También se realizaron pruebas de regresión múltiple para evaluar el efecto de peso, nivel de proteína bruta en la dieta y temperatura en el agua sobre la excreción de NAT. Todo esto se llevo a cabo implementando el paquete estadístico R versión 2.12.2, de libre distribución en internet (<http://r-project.softonic.com/>).

Adicionalmente con los datos de peso, longitud total y longitud estándar se calculo el promedio \pm desviación estándar y se realizaron graficas en función del tiempo; y con los datos de excreción total de NAT se calculo el promedio \pm error estándar y se realizó un histograma de dos ejes y, para determinar el efecto de la biomasa en la excreción de NAT en función del tiempo. Del mismo modo se evaluaron los modelos de crecimiento (lineal y exponencial) para definir cual describe mejor el crecimiento de los peces en los diferentes tratamientos evaluados.

6. RESULTADOS

A la tercera semana del experimento se encontró presencia del parásito *Gyrodactylus sp* en los peces de todos los tratamientos (Anexo 1, Figura 8). Además, los tratamientos de temperatura baja (16-18°C) con proteína bruta en la dieta de 30% y 40% (T1 y T3), presentaron síntomas de tipo bacteriano (Austin & Austin, 1999; Noga, 2000): podredumbre de la aleta dorsal, anal y lateral, acompañado de la destrucción de las aletas, enrojecimiento o úlceras en algunas zonas de la epidermis y alta producción de mucus (Anexo 1, Figura 9). Debido a esto, se inició un tratamiento profiláctico (intercalando el medicamento Sera-Backtopur y Sera-Costapur semanalmente)¹ en los tratamientos 1 y 3, puesto que eran los únicos con sintomatología bacteriana y alta mortalidad. A la quinta semana se inició en los demás tratamientos, como alternativa de precaución, anulando los sistemas de biofiltración en todos los acuarios.

Aunque se realizó el tratamiento profiláctico, la mortalidad en los individuos de los tratamientos 1 y 3 siguió aumentando, alcanzando una supervivencia del $63,3 \pm 5,57\%$ en T1 y $50 \pm 7,51\%$ en T3 (Tabla 5), lo que causó su terminación a los 40 días del experimento. Además dichos tratamientos seguían presentando síntomas de tipo bacteriano y presencia de parásitos. En el Anexo 1 (Figura 10) muestra algunos cortes de los principales órganos histopatológicos (bazo y riñón), donde se encontró grandes zonas con presencia de centros melanomacrófagos.

Por todo lo dicho, a continuación se ilustran los resultados de crecimiento y excreción de NAT en *C. auratus*, exponiendo los resultados hasta los 40 días (tiempo en el cual se terminaron los tratamientos 1 y 3), y 94 días del experimento.

1. El tratamiento Sera-Backtopur se aplicó cada dos días, agregando 44 gotas/acuario durante una semana. Después de la semana se empleó el tratamiento Sera-Costapur, en el cual se aplicó cada dos días, agregando 22 gotas/acuario. Este procedimiento se realizó hasta finalizar el experimento, intercalando semanalmente Sera-Backtopur con Sera-Costapur.

6.1. Crecimiento

La prueba Shapiro-Wilk demostró que los datos en peso, longitud total y estándar presentaban una distribución normal y la prueba ANOVA y Tukey Kramer no arrojó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos en peso y longitud estándar durante los 68 días de experimentación; sin embargo en el último muestreo (94 días) se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en peso entre el tratamiento 6 ($T^{\circ}C$: $24.8 \pm 0.45^{\circ}C$ y PB 45%) con el tratamiento 2 ($T^{\circ}C$: $24.0 \pm 0.2^{\circ}C$ y PB 30%) (Figura 3) y en longitud estándar entre el tratamiento 6 sobre el tratamiento 2 ($T^{\circ}C$: $24.0 \pm 0.2^{\circ}C$ y PB 30%), 4 ($T^{\circ}C$: $24.9 \pm 0.2^{\circ}C$ y PB 40%) y 5 ($T^{\circ}C$: $17.3 \pm 0.2^{\circ}C$ y PB 45%) (Figura 4), siendo el tratamiento que alcanzó mayor peso promedio ($10.61 \pm 4.07g$) y longitud estándar ($6.44 \pm 0.86cm$) en un periodo de tres meses.

Adicionalmente, en longitud total, se presentaron diferencias significativas a los 40 días entre el tratamiento 6 ($T^{\circ}C$: $24.8 \pm 0.45^{\circ}C$ y PB 45%) sobre el tratamiento 3 ($T^{\circ}C$: $18 \pm 0.1^{\circ}C$ y PB 40%). También hubo diferencias a los 94 días entre el tratamiento 6 ($T^{\circ}C$: $24.8 \pm 0.45^{\circ}C$ y PB 45%) sobre el tratamiento 5 ($T^{\circ}C$: $17.3 \pm 0.2^{\circ}C$ y PB 45%) (Figura 5).

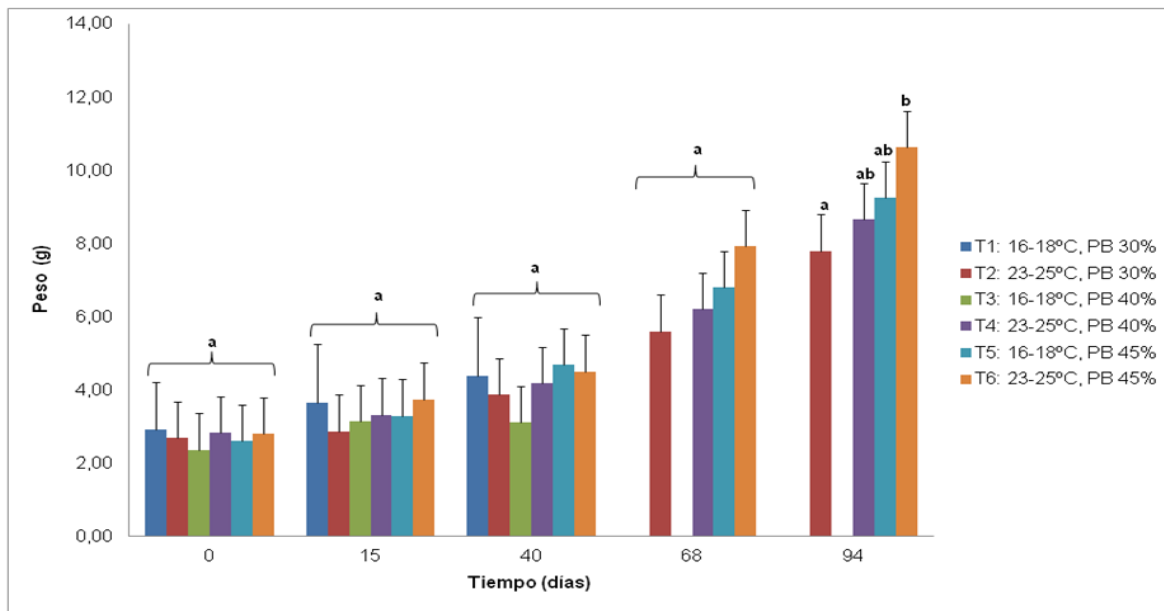


Figura 4. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30%, 40% y 45%) y la temperatura en el agua ($16-18^{\circ}C$ y $23-25^{\circ}C$) sobre el crecimiento en peso de *C. auratus*. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$).

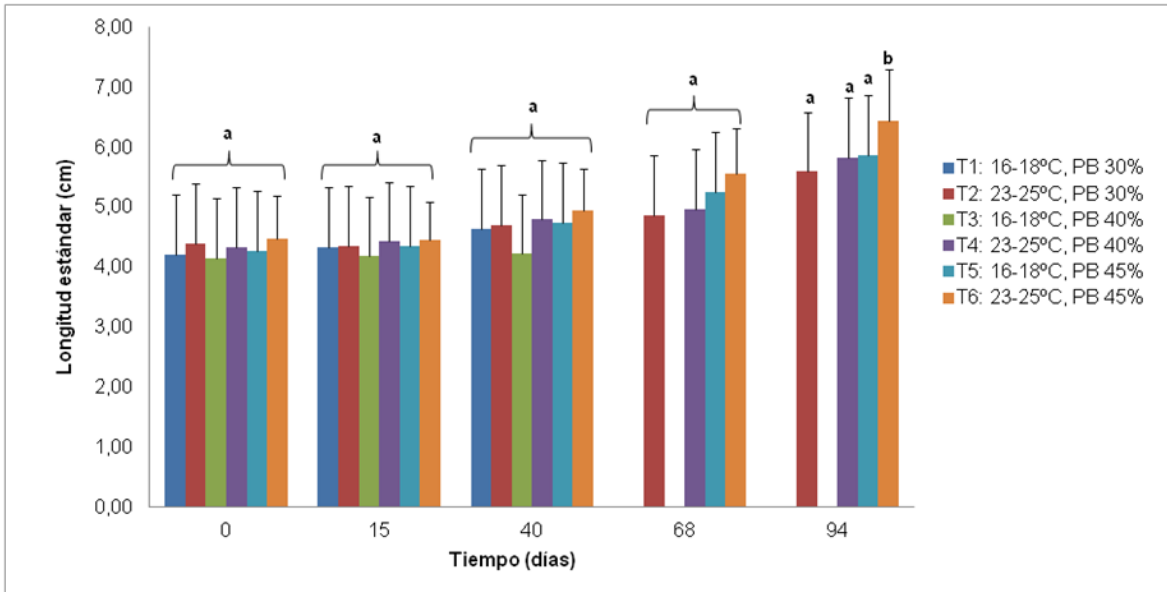


Figura 5. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30%, 40% y 45%) y la temperatura en el agua (16-18°C y 23-25°C) sobre el crecimiento en longitud estándar de *C. auratus*. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$).

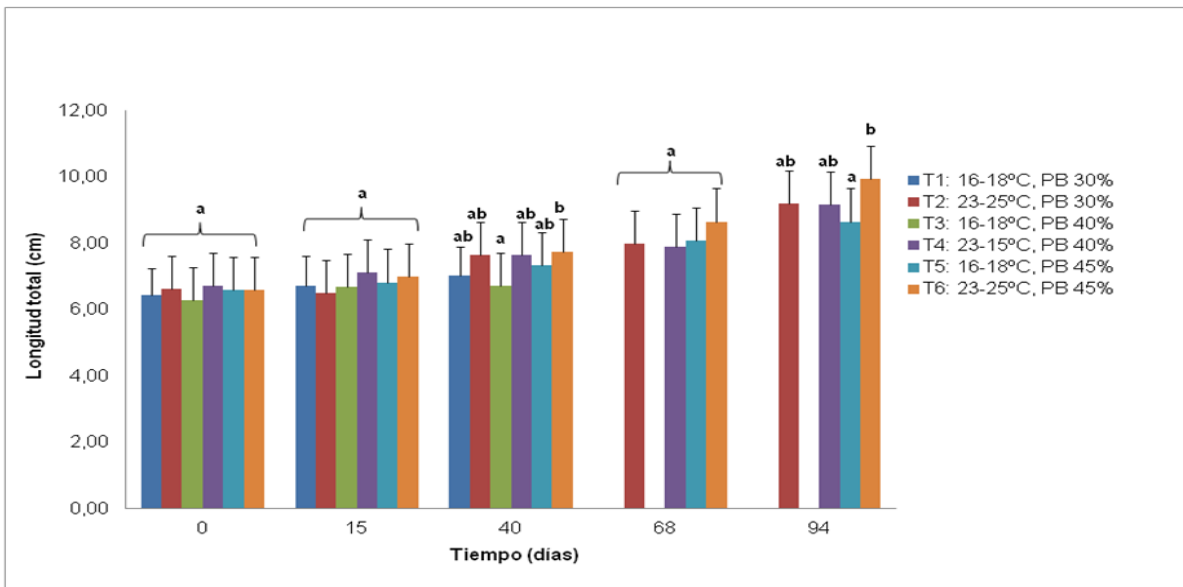


Figura 6. Efecto del nivel de proteína bruta en la dieta (30%, 40% y 45%) y la temperatura en el agua (16-18°C y 23-25°C) sobre el crecimiento en longitud total de *C. auratus*. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$).

A partir de los datos de peso en *C. auratus*, el modelo de crecimiento que se ajusto mejor fue el modelo exponencial, presentando un R² más cercano a 1 entre los tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4. Modelos de crecimiento en peso de *C. auratus*, evaluados bajo el efecto de dos rangos de temperatura en el agua (16-18°C y 23-25°C) y tres niveles de proteína bruta en la dieta (30, 40 y 45%).

T°C	PB (%)	Tratamiento	Modelo Lineal		Modelo exponencial	
			Formula $Y = a + bx$	R ²	Formula $Y = a e^x$	R ²
16-18	30	T1	$Y = 0.0348x + 2.99$	0.97	$Y = 3.0108e^{0.0096x}$	0.95
	40	T3	$Y = 0.0162x + 2.5669$	0.57	$Y = 2.5447e^{0.006x}$	0.57
	45	T5	$Y = 0.0702x + 2.2596$	0.98	$Y = 2.6594e^{0.0135x}$	0.99
23-25	30	T2	$Y = 0.0547x + 2.1809$	0.95	$Y = 2.5154e^{0.0117x}$	0.98
	40	T4	$Y = 0.0611x + 2.3668$	0.95	$Y = 2.7422e^{0.0119x}$	0.99
	45	T6	$Y = 0.0831x + 2.288$	0.95	$Y = 2.873e^{0.0142x}$	0.98

6.2. Parámetros productivos

Los parámetros productivos fueron evaluados a los 40 días (tiempo en el cual se anulo el tratamiento 1 y 3) y a los 94 días del experimento. El análisis estadístico no presento diferencias significativas ($p > 0.05$) en los primeros 40 días, solo en la supervivencia. A los 94 días se encontró diferencias significativas en ganancia de peso (GP), tasa de conversión alimenticia (TCA), crecimiento relativo (CR), factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa de eficiencia alimenticia (TEA). Los tratamientos alimentados con el mayor porcentaje de proteína bruta (45%) presentaron los mejores parámetros productivos (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros productivos de *C. auratus* durante los 40 días y 94 días del experimento. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. Las letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$). Los espacios en blanco (-) indican datos no registrados, debido a que fueron los tratamientos anulados.

Tiempo	%PB	30	30	40	40	45	45
	Temperatura (°C) Tratamiento	18.4 \pm 0.39 T1	24.0 \pm 0.2 T2	18 \pm 0.1 T3	24.9 \pm 0.2 T4	17.3 \pm 0.2°C T5	24.8 \pm 0.45 T6
40 DIAS	Supervivencia (%)	63,3 \pm 5.57 ac	86,67 \pm 2,08 abc	50 \pm 7,51 a	86,67 \pm 2,08 bc	93,3 \pm 1,15 b	90,0 \pm 1,53 b
	GP (g)	1,46 \pm 0,19 a	1,17 \pm 0.37 a	0,68 \pm 0,37 a	1,35 \pm 0,95 a	2,16 \pm 1,17 a	2,46 \pm 0,68 a
	TCA (g/día)	0,04 \pm 0,0053 a	0,03 \pm 0,01 a	0.02 \pm 0,01 a	0,04 \pm 0,03 a	0,06 \pm 0,03 a	0,07 \pm 0,02 a
	CR (%)	54,45 \pm 23,34 a	43,57 \pm 13,84 a	113,54 \pm 52,32 a	47,08 \pm 31,40 a	79,55 \pm 34,86 a	88,49 \pm 14,96 a
	K	4,41 \pm 0,64 a	3,71 \pm 0,20 a	3,97 \pm 0,49 a	3,76 \pm 0,39 a	4,33 \pm 0,38 a	4,33 \pm 0,19 a
	FCA	3,09 \pm 1,39 a	3,83 \pm 1,44 a	6,52 \pm 3,19 a	4,50 \pm 2,31 a	2,25 \pm 1,35 a	2,04 \pm 0,3 a
	TEP (g)	0,05 \pm 0,0064 a	0,04 \pm 0,01 a	0,02 \pm 0,009 a	0,03 \pm 0,02 a	0,05 \pm 0,03 a	0,05 \pm 0,02 a
	TEA	0,37 \pm 0,17 a	0,28 \pm 0,09 a	0,18 \pm 0,07 a	0,30 \pm 0,22 a	0,54 \pm 0,24 a	0,50 \pm 0,07 a
94 DIAS	Supervivencia (%)	-	73,3 \pm 3,03 a	-	70 \pm 3,67 a	93,3 \pm 1,10 a	86,7 \pm 1,53 a
	GP (g)	-	5,07 \pm 0,55 a	-	5,78 \pm 0,90 ab	6,63 \pm 1,01 ab	7,74 \pm 1,32 b
	TCA (g/día)	-	0,05 \pm 0,01 a	-	0,06 \pm 0,01 ab	0,071 \pm 0,01 ab	0,08 \pm 0,01 b
	CR (%)	-	188,90 \pm 19,26 a	-	204,60 \pm 24,66 ac	257,97 \pm 25,41 bc	279,91 \pm 25,96 b
	K	-	4,48 \pm 0,47 a	-	4,51 \pm 0,61 a	4,57 \pm 0,13 a	3,93 \pm 0,28 a
	FCA	-	2,73 \pm 0,23 a	-	2,61 \pm 0,12 ab	2,31 \pm 0,19 b	2,35 \pm 0,09 ab
	TEP (g)	-	0,17 \pm 0,02 a	-	0,14 \pm 0,02 a	0,15 \pm 0,02 a	0,17 \pm 0,03 a
	TEA	-	0,37 \pm 0,03 a	-	0,38 \pm 0,02 ab	0,43 \pm 0,03 b	0,43 \pm 0,02 ab

6.3. Excreción de NAT

El comportamiento de los datos de excreción de NAT fue diferente entre los tratamientos de temperatura alta ($24.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $24.9\pm 0.2^{\circ}\text{C}$) con los tratamientos de temperatura baja ($17.3\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $18.4\pm 0.39^{\circ}\text{C}$). Se observó una disminución de excreción de NAT en los tratamientos de temperatura alta ($24.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $24.9\pm 0.2^{\circ}\text{C}$) a medida que aumentaba la biomasa, sin embargo en el tratamiento 2 (30% PB) y 6 (45% PB) se evidenció un aumento de excreción en el último tiempo de muestreo (94 días) (Figura 6). Mientras el comportamiento de los datos de excreción total de NAT en los tratamientos de temperatura baja ($17.3\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $18.4\pm 0.39^{\circ}\text{C}$) con proteína alta (45%), presentaron una oscilación a lo largo del tiempo; durante los 65 días del experimento la excreción de NAT fue directamente proporcional a la biomasa (a medida que aumentaba la biomasa aumentaba la excreción) y hasta el último tiempo de muestreo (94 días) se evidenció una disminución de excreción de 2.09 ± 0.095 a 1.04 ± 0.10 mg/L NAT / 72h (Figura 7).

El comportamiento de excreción total de NAT en los tratamientos 1 (30% PB) y 3 (40% PB) de temperatura baja ($17.3\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $18.4\pm 0.39^{\circ}\text{C}$) no se graficó, puesto que fueron pocos los datos obtenidos; sin embargo, la excreción total de NAT que presentaron durante el tiempo que permanecieron en el experimento fue: T1: 0.26 ± 0.075 mg/L NAT / 72h a los 10 días y 0.10 ± 0.035 mg/L NAT / 72h a los 35 días; T3: 0.19 ± 0.072 mg/L NAT / 72h a los 10 días y 0.07 ± 0.04 mg/L NAT / 72h a los 35 días.

Por otro lado, se observó mayor excreción total de NAT y tasa de excreción de NAT por individuo y por gramo de pez / hora en los tratamientos que fueron alimentados con proteína bruta alta (40% y 45%) tanto en los tratamientos de temperatura alta ($24.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $24.9\pm 0.2^{\circ}\text{C}$) y baja ($17.3\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $18.4\pm 0.39^{\circ}\text{C}$), presentando una mayor excreción los tratamientos con proteína bruta del 45% (Figura 6 y 7; Tabla 6 y 7).

Se realizó un análisis de regresión múltiple ($R^2 = 0.3627$; $F = 10.62$; $P = 1.248e-05$), ($n=60$) y se encontró que entre las variables de proteína bruta, temperatura y peso, la excreción de NAT está más relacionada o más influenciada por la proteína bruta, seguido por la temperatura y por último el peso en *C. auratus*.

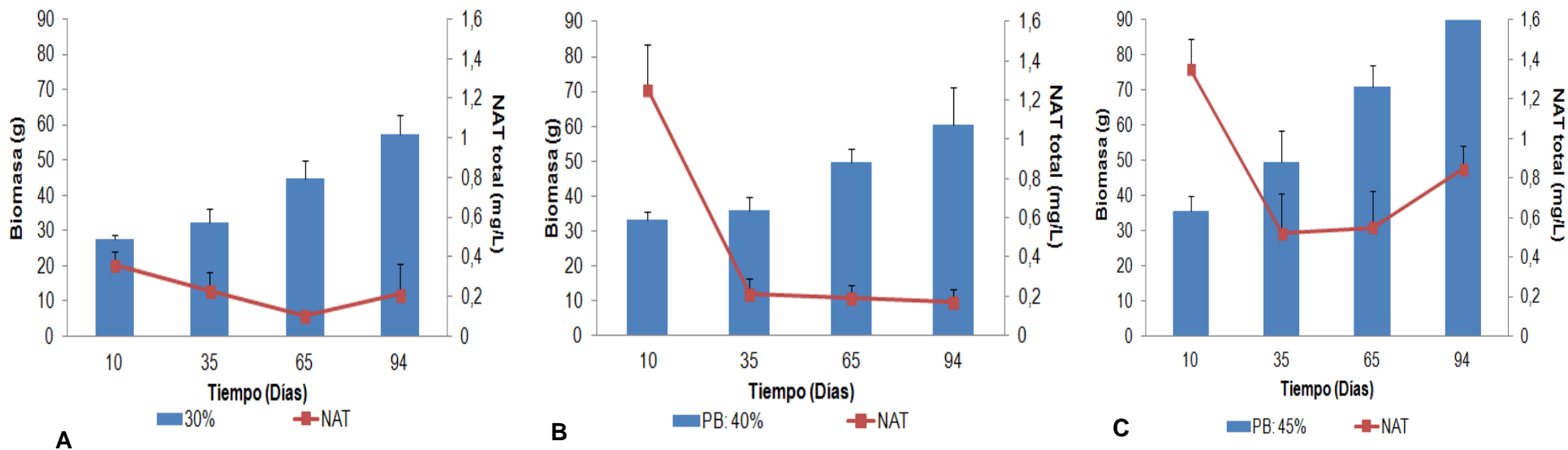


Figura 7. Efecto de la temperatura (23-25°C), el nivel de proteína en la dieta (30%, 40% y 45% PB) y la biomasa sobre la excreción total de NAT en *C. auratus*. Los valores representan el valor promedio ± error estándar. **A.** Tratamiento con 30% PB y 24.0±0.2°C (T2); **B.** Tratamiento con 40% PB y 24.9±0.2 (T4); **C.** Tratamiento con 45% PB y 24.8±0.45°C (T6).

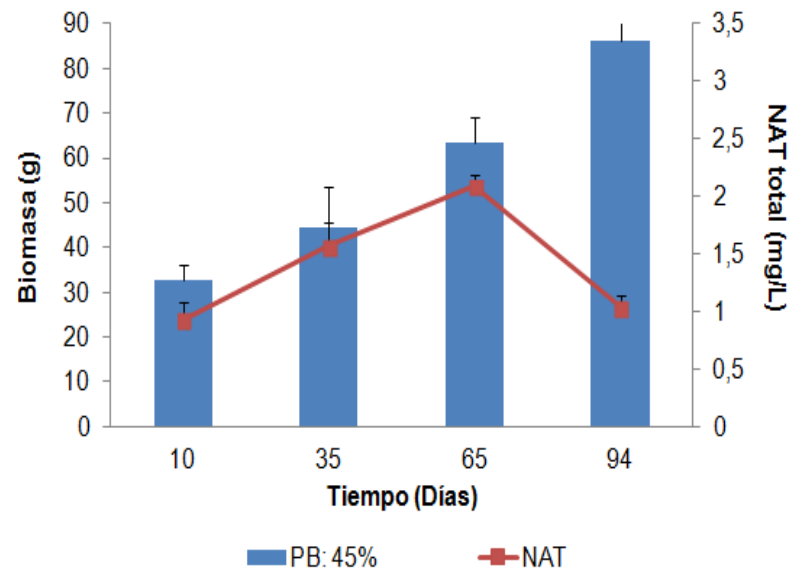


Figura 8. Efecto de la temperatura (16-18°C), el nivel de proteína en la dieta y la biomasa sobre la excreción total de NAT en *C. auratus*. Los valores representan el valor promedio \pm error estándar del tratamiento con 45% PB y $17.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (T5).

Tabla 6. Efecto de la temperatura y el nivel de proteína bruta en la dieta sobre la tasa de excreción de amonio ó NAT (TEA) por individuo durante 72h (mg/L NAT / 72h / ind) en *C. auratus*. TRAT, significa tratamiento. Los valores representan el valor promedio \pm error estándar y los espacios en blanco indican datos no registrados, debido a que fueron los tratamientos anulados. Las letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$); el análisis estadístico se realizo por tiempo (columna).

			TIEMPO (Días)							
			15		40		68		94	
T °C	TRAT	PB %	PESO (g)	TEA (mg/L/72h)	PESO (gr)	TEA (mg/L/72h)	PESO (g)	TEA (mg/L/72h)	PESO (g)	TEA (mg/L/72h)
16-18	T1	30	3.64 \pm 0.75	0.028 \pm 0.014 abd	4.38 \pm 0.38	0.016 \pm 0.014 a	-	-	-	-
	T3	40	3.14 \pm 0.59	0.03 \pm 0.02 abcd	3.04 \pm 0.67	0.009 \pm 0.009 a	-	-	-	-
	T5	45	3.29 \pm 0.33	0.093 \pm 0.015 abcde	4.75 \pm 0.98	0.17 \pm 0.015 b	6.79 \pm 0.63	0.22 \pm 0.0098 b	9.23 \pm 0.89	0.11 \pm 0.007 b
23-25	T2	30	2.87 \pm 0.06	0.037 \pm 0.0061 abd	3.87 \pm 0.32	0.028 \pm 0.011 a	5.60 \pm 0.64	0.013 \pm 0.003 a	7.76 \pm 0.45	0.027 \pm 0.019 a
	T4	40	3.32 \pm 0.24	0.125 \pm 0.023 ce	4.18 \pm 0.62	0.026 \pm 0.010 a	6.2 \pm 0.49	0.024 \pm 0.008 a	8.6 \pm 0.60	0.027 \pm 0.012 a
	T6	45	3.74 \pm 0.59	0.14 \pm 0.019 ce	5.27 \pm 0.75	0.056 \pm 0.002 a	7.91 \pm 0.61	0.060 \pm 0.020 a	10.55 \pm 1.15	0.098 \pm 0.015 b

Tabla 7. Efecto de la temperatura y el nivel de proteína en la dieta sobre la tasa de excreción de NAT por gramo de pez / hora (mg/L NAT / g / h) en *C. auratus*. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. Los espacios en blanco indican datos no registrados, debido a que fueron los tratamientos anulados.

			TIEMPO (Días)							
			15		40		68		94	
T °C	TRAT	PB %	PESO (g)	mg/L NAT /g /h	PESO (gr)	mg/L NAT /g /h	PESO (g)	mg/L NAT /g /h	PESO (g)	mg/L NAT /g /h
16-18	T1	30	3.64 \pm 0.75	0.00009 \pm 0.00007	4.38 \pm 0.38	0.00005 \pm 0.00004	-	-	-	-
	T3	40	3.14 \pm 0.59	0.0001 \pm 0.0001	3.04 \pm 0.67	0.00003 \pm 0.00005	-	-	-	-
	T5	45	3.29 \pm 0.33	0.0004 \pm 0.00004	4.75 \pm 0.98	0.0005 \pm 0.0002	6.79 \pm 0.63	0.0005 \pm 0.00004	9.23 \pm 0.89	0.0002 \pm 0.00002
23-25	T2	30	2.87 \pm 0.06	0.0002 \pm 0.00006	3.87 \pm 0.32	0.00009 \pm 0.00007	5.60 \pm 0.64	0.00003 \pm 0.000006	7.76 \pm 0.45	0.00004 \pm 0.00005
	T4	40	3.32 \pm 0.24	0.0005 \pm 0.0001	4.18 \pm 0.62	0.00009 \pm 0.00005	6.2 \pm 0.49	0.00005 \pm 0.00004	8.6 \pm 0.60	0.00005 \pm 0.00004
	T6	45	3.74 \pm 0.59	0.0005 \pm 0.00004	5.27 \pm 0.75	0.0001 \pm 0.0001	7.91 \pm 0.61	0.0001 \pm 0.00005	10.55 \pm 1.15	0.0001 \pm 0.00005

Parámetros fisicoquímicos

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos de los tratamientos 1, 3 y 5. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. TRAT, significa tratamiento y los espacios en blanco indican datos no registrados, debido a que fueron los tratamientos anulados. El pH se mantuvo en un promedio de 7.01 ± 0.09 (T1); 7.01 ± 0.04 (T3) y 6.9 ± 0.1 (T5) y la temperatura en $18.4\pm 0.39^\circ\text{C}$ (T1); $18\pm 0.1^\circ\text{C}$ (T3) y $17.3\pm 0.2^\circ\text{C}$ (T5).

SEMANA	TRAT	NAT (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	OD (mg/L)	GH (mg/L)	KH (mg/L)
1	T1	0.11 \pm 0.01	0.35 \pm 0.1	12.5 \pm 0.1	5.5 \pm 0.43	11.86 \pm 10.27	0
	T3	0.18 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	12.5 \pm 0.01	4.7 \pm 0.36	5.9 \pm 10.27	0
	T5	0.23 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	12.5 \pm 0.01	5 \pm 0.20	5.93 \pm 10.27	0
2	T1	1.02 \pm 0.46	0.017 \pm 0.0023	12.5 \pm 0.1	5.2 \pm 0.85	35.6 \pm 17.8	23.7 \pm 10.2
	T3	0.70 \pm 0.36	0.008 \pm 0.0025	12.5 \pm 0.1	4.9 \pm 0.79	23.73 \pm 10.27	0
	T5	1.72 \pm 0.55	0.015 \pm 0.004	12.5 \pm 0.1	5.5 \pm 0.32	17.8 \pm 0.1	17.8 \pm 0.1
3	T1	1.15 \pm 0.53	0.036 \pm 0.048	12.5 \pm 0.01	5.6 \pm 0.51	23.73 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T3	1.20 \pm 0.98	0.020 \pm 0.005	12.5 \pm 0.01	5.2 \pm 0.17	17.8 \pm 0.1	5.93 \pm 10.27
	T5	2.14 \pm 0.13	0.04 \pm 0.029	12.5 \pm 0.01	5.5 \pm 0.1	17.8 \pm 0.1	5.93 \pm 10.27
4	T1	0.44 \pm 0.68	0.2 \pm 0.20	29.16 \pm 19.09	5.6 \pm 0.61	11.8 \pm 10.27	11.86 \pm 20.5
	T3	1.1 \pm 1.73	0.07 \pm 0.008	16.6 \pm 7.21	5.2 \pm 0.1	17.8 \pm 17.8	11.86 \pm 10.27
	T5	1 \pm 0.52	0.09 \pm 0.025	12.5 \pm 0.1	4.86 \pm 0.32	17.8 \pm 0.1	23.73 \pm 10.27
5	T1	0.11 \pm 0.08	0.026 \pm 0.018	8.3 \pm 7.21	4.8 \pm 0.43	17.8 \pm 0.1	0
	T3	0.16 \pm 0.15	0.017 \pm 0.010	8.3 \pm 7.2	5 \pm 0.15	11.86 \pm 10.27	5.9 \pm 10.27
	T5	0.51 \pm 0.39	0.092 \pm 0.03	16.7 \pm 7.21	4.83 \pm 0.20	29.6 \pm 10.27	17.8
6	T1	0.05 \pm 0.01	0.011 \pm 0.005	4.1 \pm 7.2	5.2 \pm 0.4	11.86 \pm 10.27	0
	T3	0.14 \pm 0.08	0.052 \pm 0.068	4.16 \pm 7.21	5.2 \pm 0.1	5.93 \pm 10.27	0
	T5	0.27 \pm 0.12	0.095 \pm 0.026	20.83 \pm 7.21	4.8 \pm 0.1	35.6 \pm 0.1	17.8 \pm 0.1
7	T1	-	-	-	-	-	-
	T3	-	-	-	-	-	-
	T5	1.2 \pm 0.20	0.35 \pm 0.23	25 \pm 0.01	4.8 \pm 0.2	30.3 \pm 26.10	23.73 \pm 10.27
8	T1	-	-	-	-	-	-
	T3	-	-	-	-	-	-
	T5	0.75 \pm 0.02	0.95 \pm 0.69	41.6 \pm 14.4	4.8 \pm 0.15	59.3 \pm 10.27	17.8 \pm 0.1
9	T1	-	-	-	-	-	-
	T3	-	-	-	-	-	-
	T5	0.75 \pm 0.02	0.95 \pm 0.69	41.6 \pm 14.43	4.8 \pm 0.2	59.3 \pm 10.27	17.8 \pm 0.1
10	T1	-	-	-	-	-	-
	T3	-	-	-	-	-	-
	T5	1.09 \pm 0.14	0.72 \pm 0.53	37.5 \pm 21.6	4.9 \pm 0.2	29.6 \pm 10.27	17.8 \pm 0.1
11	T1	-	-	-	-	-	-
	T3	-	-	-	-	-	-
	T5	1.38 \pm 0.02	1.57 \pm 0.69	83.3 \pm 28.86	4.8 \pm 0.2	17.8 \pm 0.1	11.86 \pm 10.27

Tabla 9. Parámetros fisicoquímicos de los tratamientos 2,4 y 6. Los valores representan el valor promedio \pm desviación estándar. TRAT, significa tratamiento. El pH se mantuvo en un promedio de 6.9 ± 0.08 (T2); 6.8 ± 0.10 (T4) y 6.8 ± 0.13 (T6) y la temperatura en $24.\pm 0.2^\circ\text{C}$ (T2); $24.9\pm 0.2^\circ\text{C}$ (T4) y $24.8\pm 0.45^\circ\text{C}$ (T6).

SEMANAS	TRAT	NAT (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	OD (mg/L)	GH (mg/L)	KH (mg/L)
1	T2	0.5 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	12.5 \pm 0.01	4.9 \pm 0.36	11.86 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T4	0.83 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	12.5 \pm 0.01	5.16 \pm 0.15	5.93 \pm 10.27	0
	T6	0.88 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	12.5 \pm 0.01	4.5 \pm 0.25	5.93 \pm 10.27	0
2	T2	1.23 \pm 0.09	0.036 \pm 0.02	12.5 \pm 0.01	5.0 \pm 1.30	17.8 \pm 0.1	11.86 \pm 10.2
	T4	1.72 \pm 0.13	0.071 \pm 0.05	12.5 \pm 0.01	5.4 \pm 0.36	17.8 \pm 0.1	11.86 \pm 10.27
	T6	2.16 \pm 0.25	0.087 \pm 0.07	16.6 \pm 7.2	4.5 \pm 0.32	17.8 \pm 0.1	17.8 \pm 0.1
3	T2	0.54 \pm 0.59	0.40 \pm 0.23	16.6 \pm 7.2	4.6 \pm 0.43	17.8 \pm 0.1	11.86 \pm 10.27
	T4	0.013 \pm 0.023	0.18 \pm 0.01	100 \pm 0.01	4.6 \pm 0.15	17.8 \pm 0.1	0
	T6	0.16 \pm 0.12	0.25 \pm 0.20	66.6 \pm 28.86	4.3 \pm 0.40	35.6 \pm 0.1	5.93 \pm 10.27
4	T2	0.45 \pm 0.56	0.081 \pm 0.02	20.83 \pm 7.2	4.5 \pm 0.41	17.8 \pm 17.8	5.93 \pm 10.27
	T4	0.3 \pm 0.03	0.51 \pm 0.56	54.2 \pm 43.9	4.9 \pm 0.58	11.86 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T6	0.60 \pm 0.52	0.412 \pm 0.34	41.6 \pm 14.43	4.6 \pm 0.15	23.73 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
5	T2	0.65 \pm 0.36	0.12 \pm 0.02	25 \pm 0.01	4.3 \pm 0.3	11.8 \pm 10.27	5.9 \pm 10.27
	T4	0.096 \pm 0.05	0.148 \pm 0.11	83.3 \pm 28.86	4.6 \pm 0.37	29.7 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T6	0.11 \pm 0.10	0.09 \pm 0.037	83.3 \pm 28.86	4.7 \pm 0.17	23.73 \pm 10.27	0
6	T2	0.30 \pm 0.08	0.033 \pm 0.008	16.6 \pm 7.2	4.6 \pm 0.32	29.7 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T4	0.17 \pm 0.11	0.108 \pm 0.02	12.5 \pm 0.01	4.7 \pm 0.36	29.7 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T6	0.10 \pm 0.02	0.076 \pm 0.04	12.5 \pm 0.01	4.6 \pm 0.15	29.7 \pm 10.27	0
7	T2	0.09 \pm 0.17	0.042 \pm 0.007	12.5 \pm 0.01	4.6 \pm 0.35	47.46 \pm 10.27	11.86 \pm 10.27
	T4	0	0.067 \pm 0.02	16.6 \pm 7.2	4.6 \pm 0.25	47.46 \pm 10.27	0
	T6	0.25 \pm 0.01	0.08 \pm 0.03	12.5 \pm 0.01	4.6 \pm 0.1	41.53 \pm 10.27	0
8	T2	0.14 \pm 0.01	0.001 \pm 0.001	12.5 \pm 0.01	4.6 \pm 0.11	47.46 \pm 10.27	5.93 \pm 10.27
	T4	0.12 \pm 0.04	0.019 \pm 0.01	20.83 \pm 7.2	4.8 \pm 0.2	41.53 \pm 10.27	0
	T6	0.12 \pm 0.08	0.041 \pm 0.02	16.6 \pm 7.2	4.6 \pm 0.15	35.6 \pm 0.1	0
9	T2	0.16 \pm 0.01	0	12.5 \pm 0.01	4.8 \pm 0.1	47.46 \pm 10.27	0
	T4	0.17 \pm 0.02	0.003 \pm 0.005	25 \pm 0.1	4.7 \pm 0.26	59.3 \pm 10.27	0
	T6	0.22 \pm 0.04	0.023 \pm 0.01	25 \pm 0.1	4.6 \pm 0.15	47.46 \pm 10.27	0
10	T2	0.096 \pm 0.03	0.006 \pm 0.005	25 \pm 0.1	4.8 \pm 0.2	29.6 \pm 10.27	0
	T4	0.31 \pm 0.075	0.010 \pm 0.004	25 \pm 0.1	4.7 \pm 0.15	35.6 \pm 0.1	0
	T6	1.28 \pm 0.31	0.015 \pm 0.002	25 \pm 0.1	4.7 \pm 0.11	41.53 \pm 10.27	0
11	T2	0.54 \pm 0.41	0.034 \pm 0.01	12.5 \pm 0.01	4.73 \pm 0.15	23.73 \pm 10.27	0
	T4	1.75 \pm 1.34	0.03 \pm 0.008	12.5 \pm 0.01	4.6 \pm 0.05	23.73 \pm 10.27	0
	T6	1.70 \pm 0.37	0.035 \pm 0.02	37.5 \pm 21.6	4.6 \pm 0.1	29.6 \pm 10.27	0

7. DISCUSIÓN

En los acuarios y sistemas intensivos es de gran importancia controlar los parámetros fisicoquímicos en las condiciones adecuadas para la especie, puesto que su control determina la salud, el crecimiento y supervivencia de los peces (Timmons & Ebeling, 2007). En el presente estudio, los parámetros de NAT, NO_2^- , NO_3^- , OD, pH, GH y KH (Tabla 8 y 9) se mantuvieron dentro de los rangos reportados como tolerables para *C. auratus* (Dinara-FAO, 2008), por lo cual, se considera que no afectaron el crecimiento y supervivencia de la especie.

7.1. Efecto de la temperatura y el nivel de proteína bruta en la dieta sobre el crecimiento en *C. auratus*.

Los resultados obtenidos con respecto al crecimiento: en peso, longitud total y estándar en *C. auratus* fue similar en todos los tratamientos tanto de temperatura baja ($17.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $18.4 \pm 0.39^\circ\text{C}$) como alta ($24.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $24.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$) durante los primeros 40 días (Figura 4, 5 y 6); solo se presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) de longitud total entre el tratamiento 6 con el tratamiento 3 (Figura 6), debido a la alta mortalidad y disminución del crecimiento en peso que se evidenció en dicho tratamiento, causado probablemente por la presencia de parásitos y el ataque bacteriano. No obstante, después de los 40 días entre los tratamientos que permanecieron todo el experimento (T2, T4, T5 y T6) se observó una tendencia de aumento en el crecimiento de *C. auratus* en el tratamiento 6, exhibiendo a los 94 días diferencias significativas ($p < 0.05$) en peso sobre el tratamiento 2; en longitud total sobre el tratamiento 5 y en longitud estándar sobre el tratamiento 2,4 y 5 (Figura 4, 5 y 6).

En cuanto a los parámetros productivos, también se observó un mejor desempeño en el tratamiento 6 presentando a los 94 días diferencias significativas ($p < 0.05$), con respecto al tratamiento 2 en GP (T6: $7.74 \pm 1.32\text{g}$ – T2: $5.07 \pm 0.55\text{g}$); en TCA (T6: $0.08 \pm 0.01\text{g/día}$ – T2: $0.05 \pm 0.01\text{ g/día}$) y en CR (T6: $279.91 \pm 25.96\%$; T2: $188.90 \pm 19.26\%$) y con el tratamiento 4 en CR (T6: $279.91 \pm 25.96\%$; T4: $204.60 \pm 24.66\%$) (Tabla 5); similar a lo obtenido por Yang *et al.*, (2002), donde trabajo con juveniles (2.72g) de perca plateada (*Bidyanus bidyanus*), una especie de agua dulce, endémica del río Murray-Darling del Sur-Este de Australia, en el cual encontraron que la GP aumentaba con el incremento del nivel de proteína bruta en la dieta (13%, 19%, 25%, 31%, 37%, 43%, 49% y 55%), presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) en las dietas de 13%-37% de PB, siendo la de 37% la dieta con mejor rendimiento en el crecimiento de la especie. Este estudio fue similar con lo obtenido por Singh *et al.*, (2008) en el que trabajaron con una especie de la familia Cyprinidae, comúnmente llamada carpa India (*Cirrhinus*

cirrhosus) originaria de los ríos del subcontinente Indio, donde evaluaron tres temperaturas (28, 30 y 32°C) y cuatro niveles de proteína bruta en la dieta (28%, 34%, 36% y 40%) en peces con talla de 0.506±0.04g. Ellos encontraron que hubo una mayor influencia en la proteína que en la temperatura sobre el crecimiento de la especie y obtuvieron que la GP incremento con el aumento del nivel de proteína, siendo la dieta con 36% de PB la que presento los mejores parámetros en todas las temperaturas.

También se observó un mejor desempeño del tratamiento 5 arrojando diferencias significativas ($p < 0.05$) en CR, FCA y TEA sobre el tratamiento 2: CR (T5: 257.97±25.41%; T2: 188.90±19.26%); FCA (T5: 2.31±0.19; T2: 2.73±0.23) y TEA (T5: 0.43±0.03; T2: 0.37±0.03) (Tabla 5). El mejor desempeño en FCA y TEA se debe a que el FCA, que indica el alimento que hay que suministrar para cada unidad de peso ó biomasa (Iregui *et al.*, 2002), disminuyó con el incremento de PB, lo que quiere decir que hubo menor consumo de alimento para subir un gramo en el crecimiento del pez, siendo esto económicamente más rentable; y TEA, que indica la asimilación del alimento por el pez para el crecimiento (Iregui *et al.*, 2002) incrementó con el aumento de PB, lo cual indica que el pez asimiló mejor la dieta que contenía 45% PB para su crecimiento; similar a lo obtenido por Mohammad *et al.*, (2003) que trabajo con *Oreochromis niloticus* (tilapia), una especie omnívora con tendencia herbívora, pues evaluaron tres niveles de proteína bruta en la dieta (25%, 35% y 45%) en tres tallas de *O. niloticus* (0.4-0.5g; 17-22g y 37-43g), en el cual encontraron que el nivel de proteína óptima en la dieta para el crecimiento fue de 45% en la talla más pequeña (0.4-0.5g) y 35% en la talla de 20g y en la talla adulta (40g); además encontraron que el FCA incrementaba con el aumento de peso, pero disminuía con el incremento del nivel de proteína bruta en la dieta, obteniendo un rango de 1.8 (25%) 1.65 (35%) y 1.58 (45%) en la talla pequeña.

Igualmente, el estudio De Silva *et al.*, (1989) que trabajo con tallas juveniles de 1-5g y Mohamed *et al.*, (2009) con tallas de 2.5g de *O. niloticus* obtuvieron resultados similares, pues encontraron también una disminución del FCA al aumentar el nivel de proteína en la dieta y aumentos de TEA al aumentar el nivel de proteína, encontrando que el nivel óptimo de proteína para el crecimiento fue de 27-35%.

De acuerdo con los razonamientos que se han venido realizado, el análisis de ANOVA demostró que entre las variables de temperatura y proteína bruta, está última influye más el crecimiento de *C. auratus*, pues se presentó un mejor desempeño en los tratamientos con alto nivel de proteína bruta en la dieta (45%) y no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos de 24.0±0.2°C - 24.9±0.2°C (T2, T4 y T6) con los de 17.3±0.2°C - 18.4±0.39°C (T5) en la mayoría

de parámetros evaluados. Una explicación a esto se debe a que la proteína es uno de los componentes de gran importancia en la dieta de los peces, puesto que el crecimiento es en gran parte consecuencia de la síntesis proteica, resultado de dos procesos metabólicos (el catabolismo y anabolismo), donde la proteína que constituye la dieta de los peces es digerida, liberando los aminoácidos, los cuales son usados para la síntesis de nuevas proteínas, para la formación y regeneración de tejidos (como músculo, piel, células sanguíneas, enzimas, entre otros), para la producción de energía y para funciones metabólicas y reguladoras. (Corraze & Kaushik, 2007; Ilmo, 2009; Santosh & Tibbetts, 2009).

De igual manera, se considera que el alto nivel de proteína bruta (45%) en la dieta fue esencial para el crecimiento de *C. auratus*, principalmente porque los ejemplares eran juveniles, de pequeña talla ($2,70 \pm 1,10$ g), los cuales presentaban una alta tasa metabólica por unidad de volumen en comparación con otros organismos de mayor tamaño; esto debido a la relación área/volumen (Ilmo, 2009), ya que los peces y en general los organismos más pequeños tiene comparativamente mayor área expuesta que organismos de mayor tamaño, por lo cual, esto hace que consuman mayor energía y requieran mas proteína para satisfacer las necesidades metabólicas (Richard, 1980; Ilmo, 2009). Lo anterior es apoyado por Bandyopadhyay *et al.*, (2005), donde reporta que las tallas juveniles de *C. auratus* requieren alta cantidad de proteína para un crecimiento óptimo, presentando un mejor desempeño al ser alimentados con dietas de proteína bruta del 40% y 45%.

Por otro lado, el factor de condición K, que expresa el estado de nutrición del pez (Iregui *et al.*, 2002), no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos evaluados (Tabla 5), similar a lo obtenido por Carrascal *et al.*, (2011) en *Cyprinus carpio* (3.20-3.50) y por Cifuentes *et al.*, 2012 en *C. auratus* (4.60-4.89), por lo que consideramos en que los niveles de proteína bruta evaluados son suficientes para presentar un estado nutricional bueno en los peces, en el caso de los tratamientos que se mantuvieron los 94 días del experimento (T2, T4, T5 y T6). Sin embargo, esto no indica que los tres niveles de proteína expresen igual desempeño en el crecimiento de *C. auratus*, pues como se ha hablado anteriormente los demás parámetros evaluados indicarían que hay un mayor efecto de la dieta con mayor nivel de proteína (45%).

Los datos de tasa de eficiencia proteica (TEP) no se comportaron como lo reportado en otros estudios (Tabla 5), dado que, no se presentó un incremento de TEP con el aumento de PB (Ng *et al.*, 2001) y tampoco se observó una disminución de TEP con el incremento del nivel de PB en relación a lo reportado

para otras especies (Jauncey, 1982; Bandyopadhyay *et al.*, 2005; De Silva *et al.*, 1989; Yang *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2009).

Un ejemplo claro para la explicación del comportamiento de TEP se muestra en el estudio de Singh *et al.*, (2009), donde ellos evaluaron cuatro niveles de proteína en la dieta (28%, 32%, 36% y 40%) y dos niveles de temperatura (28 y 32°C), y encontraron que a temperatura de 28°C la tasa de eficiencia proteica (TEP) incremento con el aumento de PB, pero a temperatura de 32°C disminuyó con el incremento de PB. Este comportamiento fue similar con lo encontrado por los demás autores (; Jauncey, 1982; De Silva *et al.*, 1989; Yang *et al.*, 2002; Bandyopadhyay *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2009) y su explicación lo atribuyen, principalmente a dos razones:

Primero, porque el incremento de temperatura acelera el metabolismo y por ende la demanda energética, por lo cual, cuando incrementa la temperatura fuera del rango óptimo para la especie el consumo de alimento se incrementa, pero la energía no será utilizada para el crecimiento sino para satisfacer las necesidades del metabolismo acelerado, disminuyendo de esta manera la tasa de crecimiento y la tasa de eficiencia alimenticia y proteica (Singh *et al.*, 2009); y en segundo lugar, cuando hay elevados niveles de proteína bruta en la dieta de los peces, superiores a los requeridos por la especie, ocurre una disminución de la eficiencia de aprovechamiento que se ve reflejado en la tasa de eficiencia alimenticia y proteica, en el cual la proteína ya no es utilizada para el crecimiento sino para la producción de energía a través de procesos de desanimación y excreción de los aminoácidos absorbidos en exceso (Jauncey, 1982; De Silva *et al.*, 1989; Yang *et al.*, 2002; Mohammad *et al.*, 2003; Vásquez, 2004; Bandyopadhyay *et al.*, 2005). Por lo dicho anteriormente, se puede deducir que este comportamiento no fue observado, debido a que los niveles de proteína bruta evaluadas (30%, 40% y 45%) han sido reportados como niveles de proteína eficientes para el crecimiento de *C. auratus*, (Lochmann & Phillips, 1994; Bandyopadhyay *et al.*, 2005), por lo cual no hubo un exceso de proteína bruta en la dieta que afectara los datos de TEP en esta especie en todos los tratamientos. Además, con relación a los tratamientos de temperatura alta ($24.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $24.9\pm 0.2^{\circ}\text{C}$) tampoco hubo una temperatura superior al rango óptimo para la especie (20-28°C) que afectara el metabolismo; y con respecto a los tratamientos de temperatura baja ($17.3\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ - $18.4\pm 0.39^{\circ}\text{C}$) tampoco hubo un efecto en los datos durante el experimento (para T1 y T3, durante los primeros 40 días y para T5, durante los 94 días), pero si en la supervivencia de la especie en los tratamientos 1 y 3.

Adicionalmente en el análisis del modelo lineal y exponencial de crecimiento en peso se observaron valores similares de R^2 entre los tratamientos (Tabla 4); sin

embargo, el modelo que se ajustó mejor al crecimiento de *C. auratus* fue el exponencial, lo cual nos demuestra un crecimiento rápido de la especie. De la misma manera, al comparar los datos obtenidos en crecimiento con el trabajo previo de Moreno *et al.*, (2011) que evaluó el levante de *C. auratus* en sistemas cerrados de recirculación, con una temperatura de 17°C y un peso promedio inicial de 2.54±0.32g, similar al de este trabajo (T1: 2.92±1.28g; T2: 2.69±0.99g; T3: 2.36±0.92g; 2.82±1.10g; T5: 2.60±1.12g y T6: 2.80±1.14g), se encontró que el desempeño fue mejor en este trabajo presentando un crecimiento rápido de *C. auratus*, puesto que en el estudio de Moreno *et al* (2011), durante un periodo de cuatro meses y alimentados a proteína bruta de 45%, alcanzó una GP de 0.7-1g, mientras que en este trabajo a un tiempo menor (3 meses) se obtuvo una GP de 0.68±0.37g- 2.16±1.17g en los tratamientos de temperatura baja (17.3±0.2°C - 18.4±0.39°C) y 1.17±0.27g-2.46±0.68g en los tratamientos de temperatura alta (24.0±0.2°C - 24.9±0.2°C) durante los 40 días y 6.63±1.01g en los tratamientos de temperatura baja y 5.07±0.55g-7.74±1.32g en los tratamientos de temperatura alta durante los 94 días.

Por otra parte, al ser los peces organismos ectotérmicos, su metabolismo está considerablemente influenciado por la temperatura del agua para regular la temperatura corporal y optimizar los procesos fisiológicos necesarios para la supervivencia (Bellgraph *et al.*, 2010; Farrell *et al.*, 2011). Ante la situación planteada se puede decir que la temperatura no afectó significativamente el crecimiento pero si la supervivencia de *C. auratus*, puesto que los tratamientos de baja temperatura (17.3±0.2°C - 18.4±0.39°C) presentaron una alta mortalidad, ocasionando una supervivencia del 63.3±5.57% y 50±7.51% en los tratamientos 1 y 3, lo cual fue motivo de su anulación a los 40 días del experimento (Tabla 5).

Se cree que esta alta mortalidad ocurrió a causa de varios factores: primero al estrés térmico que fue causado en estos tratamientos, puesto que no se encontraban dentro del rango optimo de temperatura (20-28°C) que se ha reportado para la especie (Ahmad *et al.*, 2011) y estudios han demostrado que el estrés metabólico puede afectar la salud de la especie, aumentando la susceptibilidad a enfermedades, teniendo efectos supresores en el crecimiento y en la respuesta inmune (Cnaani, 2006; Ahmad *et al.*, 2011).

En segundo lugar al nivel de proteína bruta (30 y 40%) que presentaba la dieta en el que fueron alimentados los peces de estos tratamientos, puesto que al ser la proteína uno de los compuestos que influyen en el crecimiento y demás funciones metabólicas y reguladora del pez (Vásquez, 2004), nos hace pensar que si es baja el pez disminuye la proporción asignada para el crecimiento y demás procesos metabólicos y más bien toma una alta proporción que será gastada en

los procesos fisiológicos necesarios para la supervivencia; esto es apoyado con lo reportado por Desai & Singh, (2009); Singh *et al.*, (2009); Jinghui *et al.*, (2010), en el cual manifiestan que los requerimientos de proteína de los peces varía en relación con el parámetro de temperatura y tamaño del pez, en el sentido de que si es de baja talla su metabolismo será acelerado, lo cual requiere un nivel mayor de proteína y si es baja la temperatura requiere alto nivel de proteína para suplir la proporción de energía que será gastada para el metabolismo y crecimiento. Así mismo, esto indica que para el levante de los juveniles de *C. auratus* y a temperatura de 16-18°C es mejor alimentarlos con la dieta que contenga proteína bruta del 45%.

Finalmente otro factor que influyó en la alta mortalidad fue la presencia de parásitos y bacterias. Los parásitos que se encontraron fueron del genero *Gyrodactylus sp* (Anexo 1, Figura 9), vivíparos monogéneos que se encuentran usualmente en las branquias, sobre las aletas y el cuerpo del pez (Bakke *et al.*, 2007); en el caso de las bacterias no fueron identificadas, pero según bibliografía (Austin & Austin, 1999; Noga, 2000) la sintomatología presente en los peces era de tipo bacteriano.

El parásito *Gyrodactylus sp* estaba presente en todos los tratamientos, pero solo afectó significativamente el tratamiento 1 y 3 del experimento, siendo los únicos tratamientos con síntomas bacterianos (Anexo 1, Figura 10). Se cree que esto pudo ser debido principalmente a la biología del parásito y la temperatura que presentaban dichos tratamientos. Estudios han reportado que la supervivencia y distribución de *Gyrodactylus sp* depende de la temperatura, pues han encontrado que pueden sobrevivir en temperaturas con rango de 7-25°C, pero su ciclo de vida y supervivencia es más largo a temperaturas bajas; y su distribución es más abundante en el cuerpo a temperaturas bajas (17°C) que a temperaturas altas (22°C) (Bakke *et al.*, 2007). Además, Fernández *et al.*, (2002); Penagos *et al.*, (2009) reportan que la temperatura influye significativamente en la respuesta inmune de los peces, donde a temperaturas menores de 18°C los peces se inmunosuprimen disminuyendo los niveles de lizozimas (enzimas que causan hidrólisis a las células bacterias) y la concentración de Inmunoglobulinas (IgM, encargadas de unir los anticuerpos a antígenos para su destrucción por fagocitosis). Esto se ha demostrado por varios estudios, donde han encontrado un aumento de lizozimas al aumentar la temperatura en tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (Ndong *et al.*, 2007), tilapia de Nilo (*O. niloticus*) (Domínguez *et al.*, 2005) y fletán, un pez plano de la familia Pleuronectidae, que se encuentra en el océano Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) (Langston *et al.*, 2002); también han encontrado una disminución de inmunoglobulina al disminuir la temperatura de 25 a 12°C en tilapia (*O. mossambicus*) (Chen *et al.*, 2002) y carpa común (*C. carpio*)

(Engelsma *et al.*, 2003) y una alta producción de anticuerpos en temperaturas de 25°C comparado con temperaturas entre 15-20°C en cangrejo de río (*Pacifastacus leniusculus* y *Astacus astacus*) (Jiravanichpaisal *et al.*, 2004).

Por esta razón se cree que el efecto sinérgico de baja temperatura (estrés térmico), bajo nivel de proteína y la presencia de *Gyrodactylus sp*, fueron los factores responsables de la alta mortalidad en los tratamientos, donde la baja temperatura y el bajo nivel de proteína ocasionó una inmunosupresión de los peces en los tratamientos 1 y 3, lo cual facilitó la infección de *Gyrodactylus sp*, ocasionando lesiones en la epidermis y a su vez facilitando la entrada bacteriana. El ataque bacteriano de los tratamientos es apoyado con los cortes histológicos que fueron realizados, ya que se encontró grandes grupos de centros melanomacrófagos en riñón y bazo (Anexo 1, Figura 11), que según bibliografía reportan que una de las causas en el aumento de los centros melanomacrófagos es debido a las infecciones bacterianas, ocasionado por la disminución de la respuesta inmune (Agius & Rodríguez, 2003; Hernández *et al.*, 2008).

Mientras que la alta temperatura de los tratamientos 2,4 y 6 ocasionó una alta capacidad de respuesta inmune, logrado una supervivencia mayor del 70% (Tabla 5); además, probablemente el tratamiento profiláctico ayudó a disminuir la presencia del parásito. Con respecto a la alta supervivencia y buen desempeño del tratamiento 5 (T°C: 17.3±0.2°C y 45% PB), se le atribuye al nivel de proteína bruta de la dieta, en el cual este nivel de proteína suplió las necesidades energéticas que permitió el crecimiento y la supervivencia de la especie.

Se puede decir que bajo las condiciones en las cuales se llevó a cabo el experimento (OD > 4mg/L; pH: 6.5-7.0; NAT 2mg/L), los resultados obtenidos de crecimiento en *C. auratus* indican que el nivel de proteína bruta del 45% junto con la temperatura entre 18-25°C pueden ser apropiadas para el levante de *C. auratus*, ya que obtienen una alta supervivencia y un crecimiento rápido.

7.2. Efecto del nivel de proteína en la dieta y la temperatura sobre la excreción de NAT en *C. auratus*.

Estudios han reportado que la tasa de excreción de NAT disminuye al aumentar la biomasa, el peso o el tamaño corporal del pez (Leung *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2004; Merino *et al.*, 2007; Valbuena & Vásquez, 2011). Un ejemplo de ello es el estudio realizado por Liu *et al.*, (2009) que evaluó dos tamaños corporales (104g y 173g) en palmetto bass (comúnmente llamada lobina), una especie híbrida, procedente del cruce de *Morone saxatilis* (una especie omnívora) con *Morone chrysops* (una especie carnívora), donde encontraron una mayor tasa de

excreción de NAT en los peces de menor talla (17.34 ± 0.62 mgNAT / Kg / h), en comparación a los peces de mayor talla corporal (11.88 ± 0.45 mgNAT / Kg / h). Esto fue similar a lo obtenido en los tratamientos que presentaron temperatura de $24.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $24.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$ en los primeros 65 días (Figura 7 y Tabla 6 y 7), lo cual refleja una disminución en la tasa metabólica debido a la relación área-volumen.

Sin embargo, en el último mes de muestreo (94 días) todos los tratamientos aumentaron su tasa de excreción. Se cree que esto pudo ser debido a que en la superficie del vidrio de los acuarios se establecieron bacterias que hayan realizado el proceso de amonificación del alimento no consumido y de las heces de los peces, aportando de esta manera NAT y por ende alterando el resultado; otra posibilidad pudo ser debido a que los peces estuvieron expuestos a un factor estresante no asociado a la calidad del agua, puesto que se encontraban en las condiciones reportadas como óptimas para la especie (Tabla 9), sino a otro factor como al ruido, movimiento y paso de personas.

Adicionalmente, los datos en tasa de excreción de NAT/ individuo y NAT total en el tratamiento 5 ($T^\circ\text{C}$: $17.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$; PB: 45%) fueron distintos a lo obtenido en los tratamientos con temperatura de $24.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $24.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$, dado que se observó que la excreción de NAT en los primeros 65 días presentó una relación directa con la biomasa, es decir aumento la excreción de NAT a medida que aumentaba la biomasa (Figura 8 y Tabla 6). Esto parece indicar que, aunque el nivel de proteína permitió suplir los requerimientos energéticos necesarios para la supervivencia, los peces podrían haber estado estresados por la temperatura que mantenían los acuarios y por el tratamiento profiláctico, pues al realizar el tratamiento intercalando Sera-Baktopur y Sera-Costapur cada dos días, durante todo el experimento, tal vez causó la acumulación de algunos compuestos como el formaldehído (Anexo 2, Tabla 10), alterando la fisiología del organismo (Gandara *et al.*, 2002). No obstante, hasta los 94 días la tasa de excreción disminuyó significativamente (Figura 8), lo cual pudo ser a que los peces se aclimataron en su totalidad, disminuyendo el estrés y por ende la excreción (Dawson & Whittow 2000; Ahmad *et al.*, 2011). Lo anterior indica que además del nivel de proteína bruta, la temperatura y el peso corporal hay otras variables que pudieron haber influenciado en la excreción de NAT, como el estrés.

La tasa de excreción de NAT está directamente relacionada con el consumo de proteína en teleósteos, donde a mayor nivel de proteína bruta incrementa la excreción de NAT (Engin & Carter, 2001; Yang *et al.*, 2002; Weeb & Gtlin, 2003; Sun & Chen, 2009; Guo *et al.*, 2012). Lo anterior fue similar a lo obtenido en este estudio, donde se obtuvo mayor tasa de excreción en los tratamientos de proteína bruta alta (45%), tanto de temperatura baja como alta, arrojando diferencias

significativas ($p < 0.05$) en los tratamientos alimentados con un nivel de proteína bruta del 45% sobre los tratamientos alimentados con un nivel de proteína bruta del 30% y 40% (Tabla 6 y 7). Esto es debido a que el aumento de proteína ingerida de la dieta causa un aumento de la tasa catabólica para la degradación de estas bio-moléculas, aumentando la producción y excreción de NAT (Sinha *et al.*, 2012).

Al comparar los resultados obtenidos en excreción de NAT por gramo de pez (mg/L NAT / g/ h) de los tratamientos de temperatura alta ($24.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $24.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$) con el estudio realizado por Yang *et al.*, (2002), se encontró una mayor tasa de excreción en lo reportado por Yang *et al.*, (2002) que en lo obtenido en este trabajo (Tabla 7 y Anexo 2, Tabla 11). Lo anterior es explicado principalmente por el tamaño corporal, pues los individuos de *B. badius* eran de menor peso (2.72g) que los individuos de *C. auratus* ($2.87 \pm 0.06\text{g}$ - $3.74 \pm 0.59\text{g}$), por lo cual el metabolismo era más acelerado y por ende su tasa de excreción era más alta. Sin embargo, esto no atribuye toda la explicación. Aunque el tamaño de las dos especies no presentaba grandes diferencias, la tasa de excreción si fue significativamente mayor. Por esta razón, se cree que también pudo haber influenciado la composición de la dieta y la biología de las especies. El trabajo empleo dos dietas artificiales que han sido formuladas para tilapia (Tilapia®) y trucha (Truchina®), dos especies de hábitos diferentes, la tilapia es una especie omnívora con tendencia herbívora (como *C. auratus*) y la trucha es una especie carnívora. Esto pudo afectar en parte los resultados de excreción, ya que el alimento no es específico para *C. auratus* y al ser una especie con tendencia herbívora asimila mejor la proteína de origen vegetal que de origen animal; mientras que en el estudio de Yang *et al.*, (2002) formularon 8 dietas diferentes, teniendo en cuenta el hábito alimenticio de *B. badius* (especie carnívora).

Con respecto al efecto de la temperatura en la excreción de NAT en *C. auratus*, se observó en la primera semana mayor tasa de excreción al aumentar la temperatura, similar a lo obtenido por Liu *et al.*, (2009) (Anexo 2, Tabla 12). Sin embargo, en el transcurso de la semana no se observó una relación directa como lo reportado por Leung *et al.*, (1999); Sun & Chen (2009) y Nerici *et al.*, (2012), donde expone que a mayor temperatura mayor tasa de excreción, debido al aumento en las tasas metabólicas a través de la desaminación de los aminoácidos ingeridos en la dieta (Tabla 6 y 7). Este comportamiento se le atribuye a lo mencionado anteriormente, donde el tratamiento de temperatura baja presentó mayor excreción de NAT, debido al estrés causado por la temperatura junto con el tratamiento profiláctico.

Lo anterior es soportado por el análisis de regresión múltiple, pues demuestra que entre las variables de nivel de proteína bruta, temperatura y peso; es el nivel de proteína bruta en la dieta es el factor más influyente en la excreción de NAT, mientras que el efecto de peso corporal y temperatura fueron menos importantes; similar a lo obtenido por Leung *et al.*, (1999).

Por otro lado, los datos de este estudio en excreción de NAT son de gran utilidad e importancia para ser aplicados en los sistemas cerrados de recirculación (SCR) y sistemas acuapónicos, pues permite estimar la carga máxima de biomasa/densidad en peces; estimar el número de plantas que pueden ser mantenidas en los sistemas acuapónicos y dimensionar el tamaño del filtro biológico para mantener las concentraciones ideales de NAT.

Para estimar la carga máxima de biomasa/densidad en peces se implemento la formula: Biomasa= tasa de nitrificación / tasa de excreción de NAT. Para ello, se utilizó los datos de la tasa de excreción de NAT por gramo de pez del tratamiento 6, alimentados al 45% de proteína bruta y con temperatura de $24.8 \pm 0.45^\circ\text{C}$ (0.36 ± 0.045 mgNAT/g/72h), en el cual se calculo la tasa de excreción por día (0.014 ± 0.045 mgNAT/g/día). Además en la Universidad Militar Nueva Granada en los sistemas de recirculación de 250L se implementa biofiltros constituidos con bolas de icopor (0.3-0.6 cm de diámetro); este tipo de sistema es similar al biofiltro percolador (trickling biofilter), que según Timmons & Ebeling (2007) reporta una tasa de conversión de NAT de 0.2-1.0 g/m²/día que equivale a 200-1000mg/m²/día.

Tomando la menor tasa de nitrificación (200mg/ m²/día) y conociendo que por gramo de pez en *C. auratus* excreta 0.014 ± 0.045 mgNAT/g/día, se estimó la biomasa que puede mantener un sistema de 250L, en el cual nos arrojó una biomasa de 14286g ($200\text{mg/ m}^2/\text{día} / 0.014 \pm 0.045\text{mgNAT/g/día} = 14286\text{g}$) que equivale a una densidad de 3820 peces ($14286\text{g}/3.74\text{g}$). Esta biomasa/densidad es dada si los peces presentan un peso promedio de $3.74 \pm 0.59\text{g}$.

Los biofiltros además de mantener las concentraciones ideales de NAT para el crecimiento de los peces a través del proceso de nitrificación amonio-nitrito-nitrato, también genera el nitrato como fuente de nutriente para las plantas cultivadas. En la acuicultura el diseño del biofiltro cambia según el tipo de biofiltro que se quiere realizar, ya sea de tipo percolador (trickling biofilter), de cama fluidiza o de cama flotante, entre otros (Timmons & Ebeling, 2007). No obstante, el grupo de ictiología de la universidad implementan en los SCR de 250L biofiltros con una área de 8.92m² (volumen de 60L), las cuales han dado buen desempeño en mantener las concentraciones de NAT (Carrascal *et al.*, 2011). También ha resultado un buen

desempeño en los sistemas acuapónicos al implementar biofiltros de 1000L, constituidos por bolsas de grava. Un estudio realizado por Cifuentes *et al.*, (2012), donde implementan un biofiltro de 1000L en un sistema acuapónico de 3240L con una densidad de 330 Goldfish y 25 plantas/m² de orégano, presentaron concentraciones mayores de 80mg/L de nitrato a lo largo del experimento, logrando un buen desempeño en el crecimiento del orégano, pues mantuvo la concentración de N requerida para la especie (90 mg/L) (Assured produce, 2009).

Finalmente, para determinar el número de plantas que pueden ser cultivadas en un sistema acuapónico es necesario conocer los requerimientos nutricionales de la especie cultivada y el funcionamiento del sistema de biofiltración, en el sentido de conocer cuánto NAT se convierte a nitrato/día implementando cierto nivel de proteína bruta en la dieta, pues conociendo cuanto NAT excreta, cuanto de éste es transformado y la exigencia en Nitrógeno de la planta a cultivar, permite estimar cuantas plantas/m² puede mantener el sistema y así lograr una producción adecuada en plantas y peces.

8. CONCLUSIONES

De los 6 tratamientos evaluados, el tratamiento 6 con temperatura promedio de $24.8 \pm 0.45^\circ\text{C}$ y nivel de proteína bruta del 45% alcanzó el mayor peso promedio ($10.61 \pm 4.07\text{g}$) y longitud estándar ($6.44 \pm 0.86\text{cm}$) en un periodo de tres meses, presentando diferencias significativas en peso sobre el tratamiento 2 y longitud estándar sobre el tratamiento 2, 4 y 5.

El análisis de regresión múltiple y de ANOVA en las variables de crecimiento (peso, longitud total y longitud estándar) y parámetros productivos demostró que entre la temperatura y proteína bruta está última influye más sobre el crecimiento de *C. auratus*, siendo la dieta con nivel de proteína bruta de 45% la de mayor rendimiento.

El efecto sinérgico de la temperatura baja ($17.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$ - $18.4 \pm 0.39^\circ\text{C}$), el nivel de proteína bruta bajo (30% y 40%) y la presencia de patógenos (*Gyrodactylus sp* y bacterias) fueron los factores causantes de la alta mortalidad en *C. auratus* en los tratamientos 1 y 3.

En todos los tratamientos el modelo que mejor se ajustó en el crecimiento en peso de *C. auratus* fue el exponencial, seguido del modelo lineal.

A partir de este estudio, se logró determinar que para el levante de *C. auratus* en acuarios es mejor implementar una dieta con alta proteína bruta (45%) y mantener la temperatura entre $18-25^\circ\text{C}$, ya que se obtiene una alta supervivencia ($>70\%$) y un buen rendimiento de crecimiento en GP, TCA, CR y TEA.

El efecto de biomasa sobre la excreción de NAT, presento una correlación negativa (disminución de la excreción de NAT al aumentar la biomasa) durante los 68 días del experimento.

En los tratamientos de temperatura baja ($17.9 \pm 0.55^\circ\text{C}$) como alta ($24.3 \pm 1.09^\circ\text{C}$), se observó que la tasa de excreción de NAT aumenta con el incremento del nivel de proteína en la dieta, presentando los tratamientos que fueron alimentados con 45% de proteína bruta la mayor tasa de excreción; mientras que no hubo una relación directa con la temperatura, presentando el tratamiento 5 ($17.9 \pm 0.55^\circ\text{C}$) la mayor tasa de excreción de NAT ($0.093 \pm 0.015 - 0.11 \pm 0.007\text{mg/L/72h}$) a lo largo del experimento.

9. RECOMENDACIONES

Aumentar el tiempo de registro de datos en excreción de NAT, con el fin de obtener más datos y así poder establecer si hay un efecto directamente proporcional entre la temperatura del agua y el nivel de proteína en la dieta sobre la tasa de excreción de NAT en *C. auratus*.

Con el fin de conocer cuantas plantas se pueden cultivar en un sistema acuapónico, se recomienda hacer mas estudios, donde se pueda determinar cuánto NAT se transforma a nitrato/día, implementando cierto nivel de proteína bruta en la dieta y diferentes tipos de biofiltro (grava, percolador, entre otros).

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agius C; Roberts R. 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology J. Fish Dis. 26: 499-509.
2. Ahmad SM; Shah FA; Bhat FA; Bhat JIA; Balkini MH. 2011. Thermal adaptability and disease association in common carp (*Cyprinus carpio communis*) acclimated to different (four) temperatures. Journal of Thermal Biology. 36 (2011) 492-497).
3. Altinok I; Grizzle J. 2004. Excretion of ammonia and urea by phylogenetically diverse fish species in low salinities. Aquaculture 238 (2004) 499-507.
4. Assured Produce The Growing Partnership. 2009. Crop specific protocol. Herbs (culinary). Crop ID: Assured Food Standards, Reino Unido. En Cifuentes L; Torres A; Hurtado H; Gómez E. 2012. Evaluación del crecimiento de Goldfish (*Carassius auratus*), carpa (*Cyprinus carpio*) y orégano (*Origanum vulgare*) en un sistema acuapónico. Universidad Militar Nueva Granada. Tesis de pregrado. 81p.
5. Austin B; Austin DA. 1999. Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish. Third edition. 457p.
6. Avella M; Bornancin M. 1989. A new analysis of ammonia and sodium transport through the gills of freshwater rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Exp. Biol. 142:155-175.
7. Bakke T; Cable J; Harris PD. 2007. The Biology of Gyrodactylid Monogeneans: The "Russian-Doll Killers". Advances in Parasitology, Vol 64. 218p.
8. Bandyopadhyay P; Swain S; Mishra S. 2005. Growth and dietary utilization in goldfish (*Carassius auratus* Linn.) fed diets formulated with various local agro-produces. Bioresource Technology 96 (2005) 731-740.
9. Bellgraph BJ; McMichael GA; Mueller RP; Monroe JL. 2010. Behavioural response of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* during a sudden temperature increase and implications for survival. Journal of Thermal Biology 35 (2010), 6-10.
10. Brusca RC & Brusca GJ. 2002. Animal arquitectura and the Bauplan

concept. En: Brusca, R.C y Brusca, G.J. Invertebrates., pp. 41-91. Sinauer Associates. Sunderland.

11. Cameron JN; Heisler N. 1983. Studies of ammonia in the rainbow trout: physic-chemical parameters, acid-base behavior and respiratory clearance. J. exp. Biol 105, 107-125.
12. CCME. Canadian council of ministers of the environment. 2010. Canadian Water Quality Guidelines for the protection of Aquatic life: Ammonia. No. 1299; ISBN 1-896997-34-1.
13. Carrascal J; Hurtado H; Gómez E. 2011. Evaluación de la etapa de levante de carpa común (*Cyprinus carpio*) en sistemas cerrados de recirculación de agua. Universidad Militar Nueva Granada. Tesis de pregrado. 58p.
14. Chakraborty SC; Chakraborty S. 1998. Effect of dietary protein level on excretion of ammonia in Indian major carp, *Labeo rohita*, fingerlings. Aquacult. Nutr, 4: 47-51. En: Kaushik SJ. 2000. Factores que afectan la excreción nitrogenada en teleósteos y crustáceos. Fish Nutrition Laboratory.
15. Chang J; Johnson J; Van Goor F; Wrong C; Yunker W; Uretsky A; Taylor D; Jobin R; Wong A; Goldberg J. 2000. Signal transduction mechanisms mediating secretion in goldfish gonadotropes and somatotropes. Biochem. Cell Biol. 78, 139-153.
16. Chen WH; Sun LT; Tsai CL; Song YL; Chang CF. 2002. Cold-stress induced the modulation of catecholamines, cortisol, immunoglobulin M, and leucocyte phagocytosis in tilapia. General and Comparative Endocrinology 2002; 126: 90-100.
17. Cnaani A. 2006. Genetic perspective on stress and disease resistance in aquaculture. Isr. J. Aquaculture-Bamidgeh 58 (4), 375-383.
18. Cifuentes L; Torres A; Hurtado H; Gómez E. 2012. Evaluación del crecimiento de Goldfish (*Carassius auratus*), carpa (*Cyprinus carpio*) y orégano (*Origanum vulgare*) en un sistema acuapónico. Universidad Militar Nueva Granada. Tesis de pregrado. 81p.
19. Cooper JL; Plum F. 1987. Biochemistry and physiology of brain ammonia. Physiol. Rev 67, 440-519. En: Randall DJ; Tsui TKN. 2002. Ammonia toxicity in fish. Marine Pollution Bulletin 45 (2002). 17-23.

20. Corraze G; Kaushik S. 2007. Nutrition and feeding of fish. *Aquaculture* 267 (2007) 1-2.
21. Claiborne JB; Heisler N. 1986. Acid-base regulation and ion transfers in the carp (*Cyprinus carpio*): pH compensation during graded long- and short-term environmental hypercapnia, and the effect of bicarbonate infusion. *J. exp. Biol.* 41-61.
22. Crear BJ; Forteach. 2002. Feeding has the largest effect on the ammonia excretion rate of the southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, and western rock lobster, *Panulirus Cygnus*. *Aquacultural Engineering* 26 (2002) 239-250.
23. Dawson WR; Whittow GC. 2000. Regulation of body temperature. *Sturkie's Avian Physiology*. Fifth edition. 48p.
24. De Silva S; Gunasekera R; Atapattu D. 1989. The dietary protein requirements of Young tilapia and an evaluation of the least cost of diet protein levels. *Aquaculture*, 271-284p.
25. Department of Fisheries of Western Australia. 2005. Published: May 2005. [<http://www.fish.wa.gov.au>. accedida el 8 de agosto del 2012].
26. Desai AS; Singh RK. 2009. The effects of water temperatura and ration size on growth and body composition of fry of common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of thermal Biology* 34 (2009) 276-280.
27. Dinara-FAO. 2008. Estrategia general de la acuicultura sostenible de la República Orienta de Uruguay. Montevideo 1-68. Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura- Uruguay.
28. Dominguez M; Tekemura A; Tsuchiya M. 2005. Effects of changes in environmental factor son the non-specific immune response on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 2005; 36:391-7.
29. Emerson KRE; Lund RV; Russo R. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.* 32:2379-2383. En: Canadian council of ministers of the environment. 2010. Canadian Water Quality Guidelines for the protection of Aquatic life: Ammonia. No. 1299; ISBN 1-896997-34-1.
30. Engelsma MY; Hougee S; Nap D; Hofenk M; Rombout JH. 2003. Multiple

acute temperature stress affects leucocyte populations and antibody responses in common carp, *Cyprinus carpio* L. Fish & Shellfish Immunology 2003; 15: 397-410.

31. Engin K; Carter CG. (2001) Ammonia and urea excretion rates of juvenile Australian short-finned eel (*Anguilla australis australis*) as influenced by dietary protein level. Aquaculture, 194: 123–136.
32. Etnier DA; Starnes WC. 1993. The fishes of Tennessee. The University of Tennessee Press, Knoxville, Tennessee, USA. [<http://www.fishbase.org/summary/Carassius-auratus+auratus.html> accedida el 3 de febrero del 2012].
33. Evans D. 1984. Gill Na^+/H^+ and $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange systems evolved before the vertebrates entered freshwater. J. Exp. Biol. 113:465-469.
34. Evans DH; More JK; Robbins LS. 1989. Modes of ammonia transport across the gill epithelium of the marine teleost fish *Opsanus beta*. J. exp. Biol. 144, 139-356.
35. FAO. 2012. Estadística, Producción acuícola mundial. [<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx> accedida el 12 de Septiembre del 2012].
36. Farrell A; Stevens E; Joseph J; Cech JR; Jeffrey G; Richards G. 2011. Responses and adaptations to the environment. Fish Physiology. From Genome to environment. University of British Columbia. Volume 1. 2266p.
37. Fernández AB; Ruiz I; De blas I. 2002. El sistema inmune de los teleósteos (II): Respuesta inmune inespecífica. AquaTIC.
38. Fine M; Zilberg D; Cohen Z; Degani G; Moav B; Gertler A. 1996. The effect of dietary protein level, water temperature and growth hormone administration on growth and metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*). Comp. Bioche., Physiol. Vol. 114^a, No 1, 35-42 pp.
39. Gandara F; Jover M; García A. 2002. Efecto del tratamiento con formol sobre el consumo de oxígeno de juveniles de seriola mediterránea *Seriola dumerili* (Risso, 1810). Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 18 (1-4). 2002: 377-383.
40. García B; Valverde CE; Gómez E. 2011. Ammonia excretion of octopus (*Octopus vulgaris*) in relation to body weight and protein intake. Aquaculture

319(2011) 162-167.

41. Gómez S; Ferre H; Cassara H; Bordone S. 1997. Cultivo de peces ornamentales (*Carassius auratus* y *Cyprinus carpio*) en sistemas semiintensivos en la Argentina. *Aquatec*. 4: 1-13.
42. Gómez Y; Vargas J; Portavella M; Lopez JC. 2006. Spatial learning and goldfish telencephalon NMDA receptors. *Neurobiol. Learn. Mem.* 85, 252-262. En: Popesku JT; Martyniuk CJ; Menningen J; Xiong H; Zhang D; Xia X; Cossins AR; Trudeau VL. 2008. The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology* 293 (2008) 43-56.
43. Guo Z; Xiaming Z; Jiashou L; Han D; Yang Y; Lan Z; Xie S. 2012. Effects of dietary protein level on growth performance, nitrogen and energy budget of juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser baeri* ♀ x *A. gueldenstaedtii* ♂. *Aquaculture*, 338–341: 89–95.
44. Hanington PC; Borreda DR; Belosevic M. 2006. A novel hematopoietic granulatin induces proliferation of goldfish (*Carassius auratus* L) macrophages. *J. Biol. Chem.* 281, 9963-9970. En: Popesku JT; Martyniuk CJ; Menningen J; Xiong H; Zhang D; Xia X; Cossins AR; Trudeau VL. 2008. The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology* 293 (2008) 43-56.
45. Hernández E; Figueroa J; Iregui C. 2008. *Streptococcosis* on a red tilapia (*Oreochromis* spp) fish-farm: Case study. *J. Fish Dis*; 32: 247-252.
46. Huesa G; Van de Pol AN; Finger TE. 2005. Differential distribution of hypocretin (orexin) and melanin-concentrating hormone in the goldfish brain. *J. Comp. Neurol.* 488. 476-491. En: Popesku JT; Martyniuk CJ; Menningen J; Xiong H; Zhang D; Xia X; Cossins AR; Trudeau VL. 2008. The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology* 293 (2008) 43-56.
47. Igaki T; Sakagami T. 2004. Resistance to change in goldfish. *Behavioral Processes* 66 (2004) 139-152.
48. Ilmo D. 2009. Nutrición proteica y crecimiento en peces. Aspectos reguladores. *Academias de ciencias matemáticas, Físicoquímicas y Naturales de Granada*. 76p.

49. Ip YK; Chew SF; Randall DJ. 2001. Ammonia toxicity, tolerance, and excretion. *Fish Physiology*, Vol 20,2001, pp. 109-148.
50. Iregui C; Hernández E; Jiménez A; Pulido A; Lucía A; Comas J; Peña L; Rodríguez M. 2002. Manual de sanidad piscícola. Universidad Nacional de Colombia. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. 62p.
51. Jauncey K. 1982. The effects of varying dietary protein level in the growth food conversion, protein utilization and body composition of juvenile e tilapias (*Sarotherodonmos sambicus*). *Aquaculture* 27, 43-54.
52. Jenkins R; Burkhead N. 1993. Freshwater fishes of Virginia. American Fisheries Society, Bethesda. En: Lorenzo M; Gretti L; Pedicillo G; Carosi A. 2010. Analysis of the biological features of the goldfish *Carassius auratus auratus* in Lake Trasimeno (Umbria, Italy) with a view to drawing up plans for population control. *Folia Zool.* 59(2): 142-156.
53. Jinghui F; Xiangli T; Shuanglin D. 2010. The influence of water temperature and ration on the growth, body composition and energy budget of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Aquaculture* 299 (2010) 106-114.
54. Jiravanichpaisal P; Soderhall K; Soderhall I. 2004. Effect of water temperature on the immune response and infectivity pattern of white spot syndrome virus (WSSV) in freshwater crayfish. *Fish & Shellfish Immunology* 17 (2004) 265-275.
55. Jobling M. 1994. Fish Bioenergetics. Chapman & Hal, Londres, pp. 309. En: Martínez LR. 2002. Efecto de la dieta y otros factores sobre la excreción de amonio y el aprovechamiento del nitrógeno por la Dorada *S. aurata* y su incidencia en los cultivos de esta especie. Universitat Politècnica de Catalunya. Barcelona.
56. Kaushik SJ. 2000. Factores que afectan la excreción nitrogenada en teleósteos y crustáceos. Fish Nutrition Laboratory.
57. Knepper M; Packer R; Good D. 1989. Ammonium transport in the kidney. *Physiol. Rev.* 69:179-249.
58. Komiyama T; Kobayashi H; Tateno Y; Inoko H; Gojobori T; Ikeo K. 2009. An evolutionary origin and selection process of goldfish. *Gene* 430 (2009) 5-11.

59. Kottelat M; Freyhof J. 2007. Handbook of European freshwater fishes. *Kottelat*, Cornol. En: Lorenzo M; Gretti L; Pedicillo G; Carosi A. 2010. Analysis of the biological features of the goldfish *Carassius auratus auratus* in Lake Trasimeno (Umbria, Italy) with a view to drawing up plans for population control. *Folia Zool.* 59(2): 142-156.
60. Landines M; Sanabria A; Daza P. 2007. Producción de peces en Colombia. Producción editorial Produmedios. Bogotá. Colombia, pp. 236.
61. Langston AL; Hoare R; Stefansson M; Fitzgeralds R; Wergeland H; Mulcahy m. The effect of temperature on non-specific defense parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hipoglossus* L.) *Fish Shellfish Immunol* 2002;12: 61-76. En: Bowden T. 2008. Modulation of the immune system of fish by their environment. *Fish & Shellfish Immunology* (2008) 25, 373-383.
62. Leung KMY; Chu JCW; Wu RSS. 1999. Effects of body weight, water temperature and ration size on ammonia excretion by the areolated grouper (*Epinephelus areolatus*) and mangrove snapper (*Lutjanus argentimaculatus*). *Aquaculture* 170 (1999) 215-227.
63. Levi G; Morisi G; Coletti A; Catanzaro R. 1974. Free amino acids in fish brain: normal levels and changes upon exposure to high ammonia concentrations in vivo and upon incubation of brain slices. *Comp. Biochem. Physiol.* 49A, 623-636. En: Randall DJ; Tsui TKN. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* 45 (2002). 17-23.
64. Lim CB; Chew SF; Anderson PM; Ip YK. 2001. Reduction in the rates of protein and amino acid catabolism to slow down the accumulation of endogenous ammonia: a strategy potentially adopted by mudskipper (*Periophthalmodon schlosseri* y *Boleophthalmus boddarti*) during aerial exposure in constant darkness. *J. Ep. Biol.* 204, 1605-1641.
65. Liu G; Yang S; Cheng H. 2009. Effect of temperature, stocking density and fish on the ammonia excretion in palmetto bass (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*). *Aquaculture research*, 2009, 40, 450-455.
66. Lochmann RT; Phillips H. 1994. Dietary protein requirement of juvenile golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) and goldfish (*Carassius auratus*) in aquaria. *Aquaculture* 128, 277- 285. En: Sales J; Janssens G. 2003.

- nutrient requirements of ornamental fish. *Aquat Living Resour.* 16 (2003) 533 – 540.
67. Losordo T; Hobbs A. 2000. Using computer spreadsheets for water flow and biofilter sizing in recirculating aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering* 23 (2000) 95-102.
68. Man SH; Hodgkiss IJ. 1981. *Honn Kong freshwater fishes*. Urban council, Wishing Printing Company, Hong Kong, pp. 75. En: Fishbase [<http://www.fishbase.org/summary/Carassius-auratus+auratus.html> accedida el 5 de febrero del 2012].
69. Marshall O. 1995. *Goldfish, a complete pet owner's manual*. Borron's editorial. 2.Edition. Hong Kong, p 1-94.
70. Martínez LR. 2002. Efecto de la dieta y otros factores sobre la excreción de amonio y el aprovechamiento del nitrógeno por la Dorada *S. aurata* y su incidencia en los cultivos de esta especie. Universitat Politecnica de Catalunya. Barcelona.
71. Martyniuk C; Xiong H; Crump K; Chiu S; Sardana R; Nadler A; Gerrie E; Xia X; Trudeau V. 2006. Gene expression profiling in the neuroendocrine brain of male goldfish (*Carassius auratus*) exposed to 17alpha-ethinylestradiol. *Physiol. Genomics* 27, 238-336.
72. Merino, E. G.; Piedrahita, R.H.; Conklin, D. E. 2007. Ammonia and urea excretion rates of California halibut (*Paralichthys californicus*, Ayres) under farm-like conditions. *Aquaculture* 271 (2007) 227-243.
73. Mohammad H; Mohsen A; Khattab Y. 2003. Effect of dietary protein levels on growth performance and protein utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) with different initial body weights. Fish Nutrition Departament. 15p.
74. Mohsen A; Mohammad A; Yassir K; Shalaby A. 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). *Aquaculture* 298 (2010) 267-274p.
75. Morales GA. 2004. Crecimiento y eficiencia alimentaria de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en jaulas bajo diferentes regímenes de

alimentación. Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina. 51 p.

76. Moreno O; Gómez E; Hurtado H. 2011. Levante de Goldfish (*Carassius auratus*) en sistemas de recirculación cerrada. Revista facultad de ciencias básicas. Bogotá, Colombia. V 7, No 2. 260-276p.
77. Morgan I; Potts W; Oates K. 1994. Intracellular ion concentrations in branquial epithelial cells of brown trout (*Salmo trutta* L) determined by X-ray microanalysis. J. Exp. Biol. 194: 139-151.
78. Nerici C; Silva A; Merino G. 2012. Effect of two temperatures on ammonia excretion rates of *Seriolella violacea* (Palm fish) juveniles under rearing conditions. Aquacultural engineering 46 (2012) 47-52.
79. Nero V; Farwell A; Lister A; Van der Kraak G; Lee L; Van Meer T; Mackinnon M; Dixon D. 2006. Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sand process affected water. Ecotoxicol. Environ. Saf. 63, 365-377.
80. Ndong D; Chen Y; Lin YH; Vaseeharan B; Chen JC. 2007. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. Fish & Shellfish Immunology 2007;22: 686-94.
81. Ng WK; Sonn SC; Hashim R. 2001. The dietary protein requirement of abragid catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier and Valenciennes), determined using semipurified diet softvarying protein level. Aqua. Nutr, 7, 45-51.
82. Noga E. 2000. Fish disease: diagnosis and treatment. Second edition. Wiley blackwell. 367p.
83. Obando M. 2010. Relación entre el tamaño del cuerpo, del cerebro y algunos lóbulos cerebrales en Goldfish. Revista Facultad de Ciencias Básicas ISSN: 1900-4699. V. 6 fasc. 1p.114-123.
84. Partha I; Ogawa S; Sakuma Y. 2004. Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish. Endocrinology 145, 3613-3618.
85. Penagos G; Barato P; Iregui C. 2009. Sistema inmune y vacunación de

peces. Acta biol. Colomb, Vol 14 No. 1, 2009 3-24.

86. Popesku JT; Martyniuk CJ; Menningen J; Xiong H; Zhang D; Xia X; Cossins AR; Trudeau VL. 2008. The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology* 293 (2008) 43-56.
87. Potts WTW. 1984. Transepithelial potentials in fish gills. En: Hoar, W.S.; Randall, D.J. *Fish Physiology*, Vol. XB, New York: Academic Press 1984:105-128.
88. Preuss T; Osel-Bonsu P.E; Welss S.A; Faber DS. 2006. Neural representation of object approach in a decision-making motor circuit *J. Neurosci.* 26:3454-3464. En: Popesku JT; Martyniuk CJ; Menningen J; Xiong H; Zhang D; Xia X; Cossins AR; Trudeau VL. 2008. The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology* 293 (2008) 43-56.
89. Ramírez D; Sabogal D; Jiménez P; Hurtado H. 2009. Montaje y Evaluación preliminar de un sistema acuapónico Goldfish-Lechuga. Universidad Militar Nueva Granada. ISSN 1900-4699 Vol 5 No 1 pp 154-170.
90. Randall D. 2011. Excretion of Ammonia. En: Farrell A. 2011. *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment*. Vol: 1. 2266 p.
91. Randall DJ; Tsui TK. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* 45 (2002). 17-23.
92. Randall DJ; Wilson JM; Peng KW; Kok TWK; Kuah SSL; Chew SF; Lam TJ; Ip YK 1999. The mudskipper, *Periophthalmodon schlosseri*, actively transports NH_4^+ against a concentration gradient. *Am. J. Physiol.* 46, R1562-R1567.
93. Randall DJ; Wright PA. 1989. The interaction between carbón dioxide and ammonia excretion and wáter pH in fish. *Can.J.Zool.* 67: 2936-2942. En: Randall DJ; Tsui TK. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* 45 (2002). 17-23.
94. Richard W. 1980. *Comparative physiology of animal san environmental approach*. Editorial Reverte. 901p.
95. Ruales D; Arturo D; Torres V. 2010. Transporte iónico en el epitelio

branquial de peces de agua dulce. Revista Ilesalista de investigación, vol 7, No 1, 2010, pp. 85-99.

96. Ruff K. 2009. Freshwater aquarium chemistry. A comprehensive guide for tropical fish hobbyists. AquaChemPublishing. 79p.
97. Saha N; Das L; Dutta S; Goswami UC. 2001. Role of ureogenesis in the mud-dwelled Singhi catfish (*Heteropneustes fossilis*) under condition of water shortage. Comp. Biochem. Physiol. 128A, 137-146.
98. Santosh P; Tibbetts S. 2009. Nutrition, feeding, and behavior of fish. Vet Clin Exot Anim 12 (2009) 361-372.
99. Schmidt K. 1997. Chapter 9. Excretion. Animal Physiology: Adaptation and environment. Fifth edition. Cambridge University Press. 617p.
100. Shakhashiri 2006. Ammonia, NH₃. Chemical of the weak. General Chemistry [http://scifun.chem.wisc.edu/chemweek/pdf/ammonia.pdf accedida el 29 de Enero del 2012]
101. Singh RK; Chavan SL; Desai AS; Khandagale PA. 2008. Influence of dietary protein levels and water temperature on growth, body composition and nutrient utilization of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1922) fry. Journal of Thermal Biology 33 (2008) 20-26.
102. Singh RK; Desai AS; Chavan SL; Khandagale. 2009. Effect of water temperature on dietary protein requirement, growth and body composition of Asian catfish, *Clarias batrachus* fry. Journal of Thermal Biology 34 (2009) 8-13.
103. Sinha KA; Liew JH; Diricx M; Blust R; Boeck G. 2012. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L). Aquatic Toxicology 109(2012) 33-46.
104. Smartt J. 2001. Goldfish varieties and genetic fishing news books. United Kingdom.
105. Sun L; Chen H. 2009. Effects of ration and temperature on growth, fecal production, nitrogenous excretion and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture. 292 (2009). 197-206.

106. Timmons MB; Ebeling JM. 2007. Aquaponic: Integrating Fish & Plant culture. Recirculating aquaculture. 2th ed. USDA.
107. Uliano E; Cataldi M; Carella F; Migliaccio O; Laccarino D; Agnisola C. 2010. Effects of acute changes in salinity and temperature on routine metabolism and nitrogen excretion in gambusia (*Gambusia affines*) and Zebrafish (*Danio rerio*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 157 (2010) 283-290.
108. Valbuena R & Vásquez W. 2011. Body weight is inversely associated with ammonia excretion in red tilapia (*Oreochromis sp*). Revist Colombiana de Ciencias Pecuarias.; 24: 191-200.
109. Vásquez W. 2004. Principios de nutrición aplicada al cultivo de peces. Instituto de Acuicultura- Universidad de los Llanos. 101p.
110. Wajsbrodt N; Gasith A; Diamant A; Popper DM. 1993. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. J. Fish Biol. 42, 321-328.
111. Weeb KA; Gatlin DM. 2003. Effects of dietary protein level and form on production characteristics and ammonia excretion of red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture 225 (2003) 17-26.
112. Wilkie PM. 1997. Mechanisms of ammonia excretion across fish gills. Comp. Biochem Physiol. Vol, No 1, pp. 39-50.
113. Wilson JM; Iwata K; Iwama GK; Randall DJ. 1998. Inhibition of ammonia excretion and production in rainbow trout during severe alkaline exposure. Comp. Biochem. Physiol. 121, 99-109.
114. Wood C; LeMoigne J. 1991. Intracellular acid-base responses to environmental hypoxia and normoxic recovery in rainbow trout. Resp. Physopñ. 86:91-113.
115. Wood CM. 2001. Influence of Feeding, Exercise and Temperature on Nitrogen Metabolism and Excretion. En: P. Wright y P. Anderson. Nitrogen Excretion. pp. 201 - 238. Editorial Academia Press. San Diego, California.
116. Wood CM; 2006. Ammonia and urea metabolism and excretion. En: Evans D; Claiborne JB. The physiology of fishes, pp. 379-425. CRC.

117. Yang SD; Liou CH; Liu FG. 2002. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* 213 (2002) 363-372.
118. Yuxiang W; Patrick JW. 2000. High ammonia tolerance in fishes of the family Batrachoididae (Toadfish and Midshipmen). *Aquatic Toxicology* 50 (2000) 205-219.
119. Zhang AA; Goodwin AE; Pfeijer TJ; Thomforde H. 2004. Effects of temperature and size on ammonia excretion by fasted golden shiners. *North Am J Aquacult* 2004; 66:15-19.

11. ANEXOS

11. 1. Anexo 1

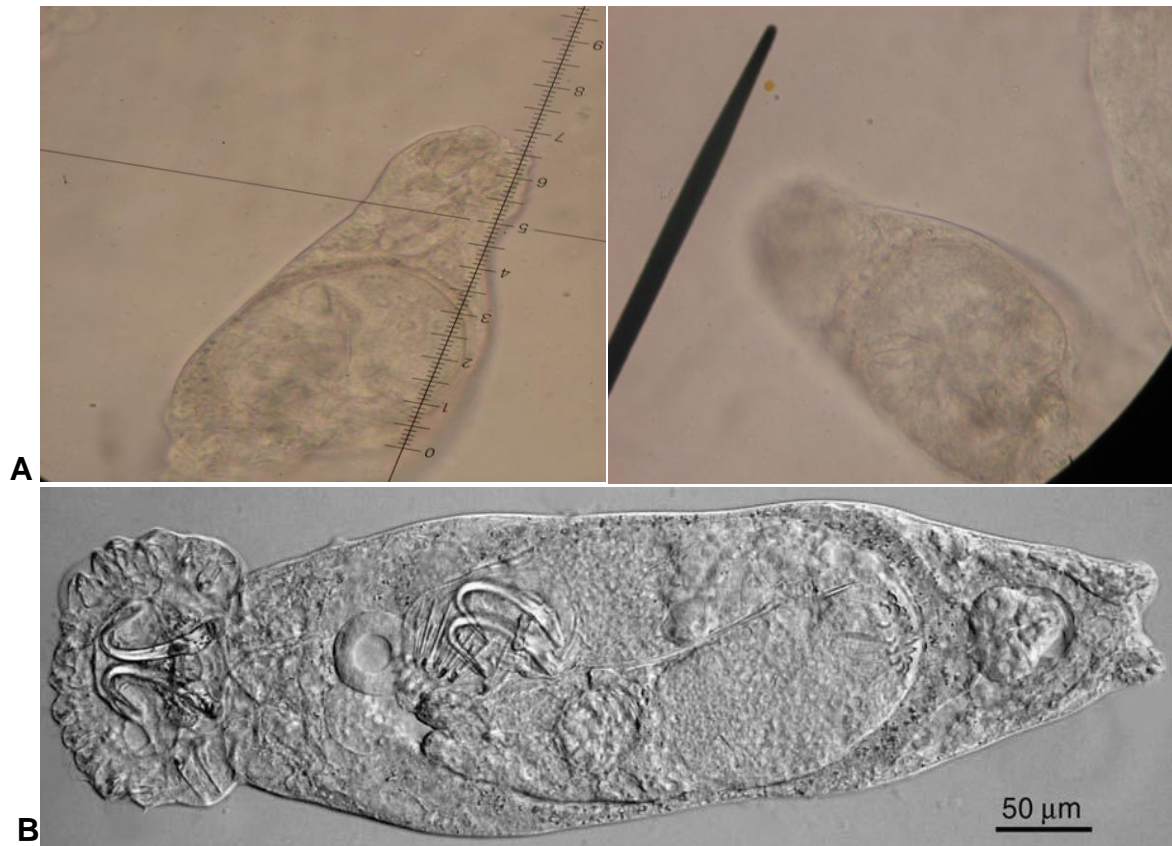


Figura 9. A. Parasito de tipo *Gyrodactylus sp* encontrado en los individuos de *C. auratus*. **B.** Micrografía (contraste de interferencia) de *Gyrodactylus sp*, tomada de Bakke *et al.*, (2007).



Figura 10. Presencia de enfermedad bacteriana, según Austin & Austin (1999); Noga (2000) en individuos de *C. auratus* del tratamiento de temperatura baja (16-18°C) con nivel de proteína bruta del 30% y 40% (Tratamiento 1 y 3).

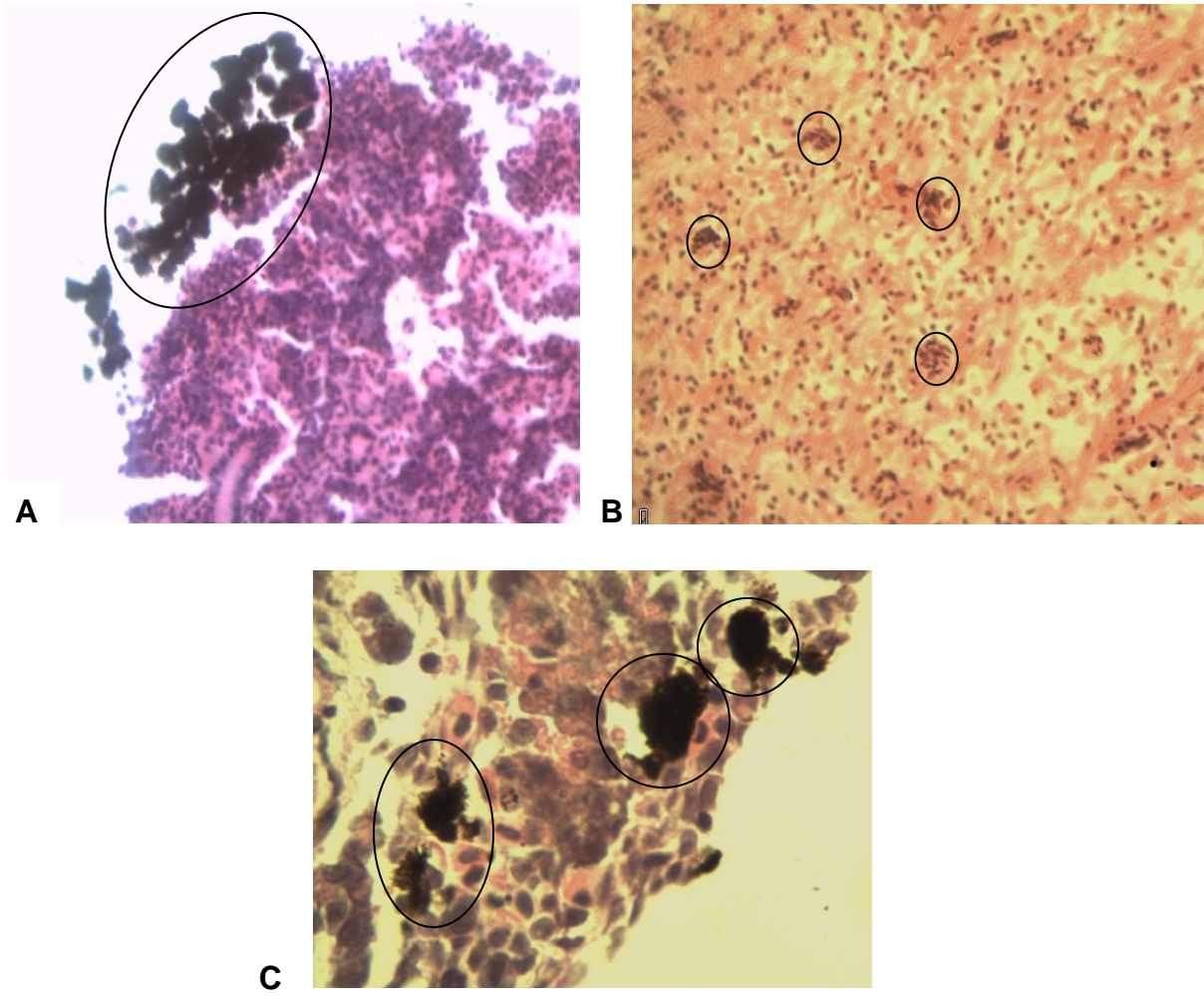


Figura 11. Centros melanomacrogos (círculos) en los principales órganos histopatológicos. **A.** Riñón (40X). **B.** Bazo. (10x). **C.** Bazo (40x). Tinción Hematoxilina Eosina (H&E).

11.2. ANEXOS 2

Tabla 10. Componentes de Sera-Backtopur y Sera- Costapur (tratamiento profiláctico)

Sera-Backtopur		Sera-Costapur	
Componente	Cantidad	Componente	Cantidad
Acriflavina	209.7mg	SERA Costapur	100ml
Azul de metileno	4.95mg	Oxalato de malaquita verde	0.18g
Fenilglicol	0.6g	Solución de formaldehido	5.89g
Agua purificada	100ml	Agua purificada	100ml

Tabla 11. Comparación del efecto del nivel de proteína bruta sobre la excreción de NAT (mg/L /g / h).

	T2	T4	T5	Yang et al., 2002		
% PB	30	40	45	31	37	43
Temperatura (°C)	24.±0.2°C	24.9±0.2	24.8±0.45	25±1	24.5	24.5
Peso (g)	2.87±0.06	3.32±0.24	3.74±0.59	2.72	2.72	2.72
mg/L NAT / g / h	0.0002±0.00006	0.0005±0.0001	0.0005±0.00004	0.0096±0.0012	0.010±0.002	0.015±0.017

Tabla 12. Comparación del efecto de la temperatura sobre la excreción de NAT (mg/L /g / h).

	T5	T6	Liu et al., 2009	
Temperatura (°C)	17.3±0.2°C	24.8±0.45	18	23
Peso (g)	3.29±0.33	3.74±0.59	31.41±6.91	31.41±6.91
mg/L NAT / g / h	0.0004±0.00004	0.0005±0.00004	0.000005882	0.00001