

METABOLISMO DE RUTINA Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA EN JUVENILES DE TILAPIA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) ACLIMATADA A DIFERENTES SALINIDADES

ROUTINE METABOLISM AND DIGESTIVE ENZYMATIC ACTIVITY IN JUVENILE TILAPIA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) ACCLIMATED TO DIFFERENT SALINITIES

María Idalia Sandoval-Muy*, Manuel Antonio Guereña-Araiza, Anselmo Miranda-Baeza y Martha Elisa Rivas-Vega

Centro de Estudios Superiores del Estado de Sonora, Carretera a Huatabampo y Periférico Sur, Navojoa, Sonora, México.

RESUMEN

En el presente estudio se utilizaron juveniles del híbrido de la cruce de tilapia *O. mossambicus* x *O. niloticus*, los cuales fueron aclimatados a diferentes salinidades. Se determinó el efecto de la salinidad del agua sobre el metabolismo de rutina de juveniles de este híbrido a 0, 10, 20, 30 y 35 unidades prácticas de salinidad (ups) con tasas máximas de consumo de oxígeno de $0,230 \pm 0,063$, $0,177 \pm 0,050$, $0,244 \pm 0,073$, $0,194 \pm 0,045$ y $0,172 \pm 0,037$ mg O₂/g/h en base seca respectivamente. La actividad enzimática digestiva del tipo tripsina y α -amilasa se vio afectada significativamente con la salinidad del agua de cultivo. Se observó un máximo de actividad tipo-Tripsina de $2.1 \pm 0,29$ U/mg proteína en agua dulce, mientras que a 35 ups la actividad bajó a $0,4 \pm 0,07$ U/mg proteína. En la actividad del tipo α -amilasa, se observó una tendencia a disminuir a medida que se incrementó la salinidad, encontrándose una actividad de $0,87 \pm 0,15$ U/mg de proteína en agua dulce y de $0,27 \pm 0,00$ U/mg de proteína a 35 ups. Bajo las condiciones de este estudio el gasto energético y la actividad enzimática de juveniles de tilapia se ven afectados por la salinidad.

Palabras clave: tilapia híbrida, metabolismo, enzimas, agua de mar.

ABSTRACT

In the present study juvenile of hybrid tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) were used; which were acclimated to different salinities. The effect of water salinity on the routine metabolism of juvenile of this hybrid at 0, 10, 20, 30 and 35 practical salinity units (psu) were evaluated, with maximum rates of oxygen consumption of 0.230 ± 0.063 , 0.177 ± 0.050 , 0.244 ± 0.073 , 0.194 ± 0.045 and 0.172 ± 0.037 mg O₂/g/h in dry matter, respectively. The digestive enzymatic activity like-trypsin and amylase were affected significantly with water salinity. Maximum activity like-trypsin was 2.1 ± 0.29 U/mg protein in freshwater, this decreased at 35 psu to 0.4 ± 0.07 U/mg protein. Amylase activity diminished while the salinity increased, from 0.87 ± 0.15 U/mg protein in freshwater to 0.27 ± 0.00 U/mg protein at 35 psu. Under the conditions of this study the energetic expense and the digestive enzymatic activity of juvenile tilapia were significantly affected by the salinity.

Key words: Hybrid tilapia, metabolism, enzymes, seawater.

*Autor para correspondencia: María Idalia Sandoval Muy

Correo electrónico: maria.sandoval@cesues.edu.mx

Recibido: 13 de abril de 2012

Aceptado: 2 de julio de 2012

INTRODUCCIÓN

La creciente popularidad de la tilapia entre los consumidores y la necesidad de producción de alimento ponen de manifiesto la necesidad de buscar alternativas de producción de esta especie en agua salobre e inclusive en el ambiente marino (Mena-Herrera *et al.*, 2001). El consumo de alimento, el consumo de oxígeno y metabolismo energético son procesos fuertemente relacionados que ocurren en todos los animales; en particular la tasa de consumo de oxígeno en animales acuáticos, es de gran importancia, en los cultivos intensivos y semiintensivos y en los peces ha sido una herramienta para determinar las tasas metabólicas las cuales frecuentemente se utilizan para analizar la distribución de energía y estrés en los animales acuáticos (Meade *et al.*, 2002).

La Tilapia es un pez ampliamente cultivado y estudiado, se han publicado numerosos trabajos sobre su metabolismo y osmoregulación principalmente con la especie *O. mossambicus* (Fiess *et al.*, 2007; Sardella y Brauner 2008; Wang *et al.*, 2009; Kammerer *et al.*, 2010). Mientras que el estudio reportado por Xie *et al.* (1997) se enfoca sobre el efecto de la ración alimenticia sobre la tasa metabólica de *O. niloticus*. Sin embargo, no existen investigaciones encaminadas a la determinación de la distribución de la energía, las tasas metabólicas y la actividad enzimática digestiva, que son importantes considerar ya que se requieren para el desarrollo de dietas eficientes. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la salinidad del agua sobre el metabolismo de rutina de juveniles de tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) y la actividad enzimática digestiva del tipo tripsina y α -amilasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los juveniles se compraron en un laboratorio comercial en Zapopan, Jalisco, México (AQUATIC DEPOT); se recibieron en el laboratorio de piscicultura del Centro de Estudios Superiores del Estado de Sonora Unidad Académica Navojoa, y se coloca-

ron en una tina circular de 1500 L a una densidad de 2000 organismos/m³, con un peso promedio de 0,1g. Se mantuvieron un mes en agua dulce a 28 °C y el oxígeno disuelto por arriba de 5 mg/L. Se realizó un recambio de agua del 50 % diario con agua filtrada a 5 micras.

La aclimatación de los organismos a diferentes salinidades se realizó en 5 tinas de fibra de vidrio de 70 L de capacidad, colocando 30 organismos en cada tina, con peso promedio de 0,565±0,1g. La salinidad se incrementó gradualmente con agua marina, incrementando 10 ups cada 24 horas hasta obtener 10, 20, 30 y 35 ups (Martínez, 2003). El agua utilizada se filtró a 5 micras y se pasó a través de un filtro de luz ultravioleta. Los peces se mantuvieron a 28°C y el oxígeno se mantuvo por arriba de 5 mg/L. Los peces se alimentaron con alimento comercial API Tilapia 1 con 40 % de proteína.

Los experimentos para determinar las tasas de consumo de oxígeno se realizaron de forma independiente para cada condición de salinidad (0, 10, 20, 30 y 35 ups). Se utilizó un sistema cerrado de respirometría en donde el volumen de agua se mantuvo constante (Ocampo, 1998). El respirómetro consistió en una tina rectangular de plástico con 220 L de agua dulce, donde se colocaron calentadores y aireación constante para homogenizar el agua a 28°C. Dentro de la tina se colocaron 17 cámaras respirométricas. Cada cámara estuvo formada por un recipiente de plástico transparente con un litro de agua, se les colocó aireación y se cerraron herméticamente. En cada una de las cámaras, se colocaron 2 peces de talla uniforme y se dejaron dos cámaras sin organismos como control, a las cuales se les dio el mismo tratamiento que las que contenían peces, con el fin de cuantificar consumo de oxígeno por microorganismos.

Una vez colocados los peces en las cámaras se aclimataron durante 24 horas. Para medir el consumo de oxígeno se utilizó un oxímetro YSI (Modelo 57), provisto de un sensor polarográfico. Se hizo

la lectura de la concentración inicial a cada una de las 17 cámaras y se dejaron una hora sin aireación, trascurrido el tiempo se midió el consumo final de oxígeno. Después de esta medición se les colocó aireación nuevamente a las cámaras durante 45 minutos, este procedimiento se llevó a cabo seis veces en un día. Una vez finalizado el experimento los organismos se sacaron de las cámaras y se pesaron en una balanza analítica, posteriormente para sacrificarlos se colocaron en agua con hielo a 0 °C y después se pusieron en una estufa a 60 °C por 24 horas para determinar su peso seco. Los resultados se expresan en mg O₂/g/h en base seca.

Con los valores de la concentración inicial y final de oxígeno se calculó la tasa de consumo de oxígeno para cada organismo mediante la siguiente ecuación:

$$Q_{o_2} = \frac{O_2 * V * \theta}{t * P}$$

Donde:

Q_{o_2} = tasa de consumo de oxígeno (mg O₂ /h/g peso seco).

O_2 = diferencia entre la concentración inicial y final de oxígeno (mg/L).

V = volumen de la cámara.

θ = factor de conversión de minutos a horas.

P = peso seco del organismo (g).

t = tiempo transcurrido (minutos).

Para la determinación de la actividad enzimática, los organismos fueron aclimatados a las diferentes salinidades (0, 10, 20, 30 y 35 ups) durante 15 días, para esto, se utilizaron 5 tinas de fibra de vidrio de 70 L, colocando 20 organismos en cada una con un peso promedio inicial de 1,2±0,4g. La salinidad se incrementó como se describió anteriormente para la determinación de la tasa de consumo de oxígeno. Los organismos de cada tratamiento fueron alimentados con alimento comercial API Tilapia 1, con 40% de proteína.

Después de 15 días en cada una de las condiciones experimentales de salinidad, los intestinos

de 20 peces se disectaron, y se obtuvo el extracto enzimático, para esto, los intestinos se homogenizaron con 5 volúmenes de agua destilada, utilizando un homogenizador de tejidos marca Power Gen 125. Las muestras se mantuvieron a una temperatura menor a 10 °C, utilizando hielo. Los homogenizados se centrifugaron durante 10 min a 4 °C a 1500g, el sobrenadante se separó para determinar el contenido de proteína soluble (mg/L) y las actividades enzimáticas del tipo tripsina y α -amilasa (Abs/min/mg de proteína). La muestra se almacenó a -50 °C, hasta su análisis.

Para la determinación de proteína soluble a 1 mL del extracto enzimático se le adicionaron 200 μ L del reactivo Bradford y se leyó la absorbancia a 595 nm. Los resultados se reportan como mg proteína/mL de extracto protéico, corriéndose a la vez una curva estándar con albúmina (Bradford, 1976).

Para la actividad de tripsina se usó como sustrato Benzoil-Arg-p-Nitroanilida (BAPNA), se disolvió en 1 mL de DMSO para tener una concentración final de 1 mM y se aforó a 100 mL con buffer TRIS 50 mM pH 7,5, conteniendo 20 mM CaCl₂. La reacción se llevó a cabo a 25 °C. A 1,25 mL de la solución de sustrato se le agregaron 10 mL del extracto enzimático, después de 10 min se detuvo la reacción con 0,25 mL de ácido acético 30 % y se leyó la absorbancia a 410 nm, se corrió un blanco a la vez, al cual, se le adicionó el sustrato al final de la reacción. La absorbancia se midió utilizando un espectrofotómetro Marca HACH DR 5000. La actividad de tripsina es reportada como unidades de actividad (Abs₄₁₀/min)/mg de proteína (Erlanger et al., 1961).

Para medir la actividad tipo amilasa se usó almidón como sustrato, se mezclaron 5 mL del extracto enzimático, 500 mL de buffer Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 y 500 mL de almidón soluble 1 %, después de 10 min de incubación a 37 °C, se adicionó 200 mL de carbonato de sodio 2 N, y 1,5 mL de DNS, se agitaron los tubos y se calentaron a ebulli-

ción en baño maría por 15 min, posteriormente se adicionó 7,3 mL de agua destilada. Se leyó la absorbancia a 550 nm, se corrió un blanco a la vez, al cual, se le adicionó el almidón al 1% al final de la reacción. Se utilizó un espectrofotómetro Marca HACH DR 5000. Las unidades de amilasa se reportaron como unidades ($\text{Abs}_{550}/\text{min}$)/mg de proteína (Vega-Villasante et al., 1993).

Los datos fueron analizados con el software STATISTICA, mediante un ANOVA y posteriormente una prueba de Tuckey cuando existió diferencia significativa entre las medias ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los límites de tolerancia a la salinidad de las diferentes especies de tilapia varían considerablemente. Por ejemplo, Al-Amoundi (1987) comparó la tolerancia a la salinidad de 5 especies de tilapia entre las que se encuentra *O. mossambicus* e híbridos de *O. niloticus* que coinciden con las utilizadas en este trabajo y concluye que la preaclimatación a baja salinidad resultó en una mejor supervivencia en todas las especies. En esta investigación la supervivencia fue del 100% durante el proceso de aclimatación a las diferentes salinidades de los juveniles del híbrido de tilapia *O. mossambicus* x *O. niloticus*; estos resultados concuerdan con los de Iwama et al. (1997) y Sardella y Brauner (2008), quienes han demostrado la capacidad de algunos híbridos de tilapia para sobrevivir y crecer en agua salobre y agua de mar en organismos descendientes de una crucea con *Oreochromis mossambicus*, la cual es una especie altamente tolerante a condiciones de alta salinidad.

Se encontró un efecto significativo ($p < 0,05$) sobre la tasa de consumo de oxígeno en juveniles de tilapia aclimatada a diferentes salinidades. La tasa de consumo de oxígeno significativamente más alta, se presentó en 0 y 20 ups ($0,230 \pm 0,063$ y $0,244 \pm 0,073$ mg $\text{O}_2/\text{g}/\text{h}$ respectivamente) (Tabla 1) y se observó una disminución a una salinidad de 10 ups ($0,177 \pm 0,050$ mg $\text{O}_2/\text{g}/\text{h}$); se ha observado

que para tilapia el punto isosmótico es alrededor de esta salinidad (Kültz y Onken, 1993), por lo que este comportamiento se puede explicar como un menor gasto energético, debido a que el gradiente osmótico entre el medio acuático y el plasma del pez es nulo; en este sentido, Mena-Herrera et al. (2001) infieren que este híbrido (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) desarrolla mecanismos fisiológicos de adaptación, que le permiten sobrevivir y crecer después de ser transferida del agua dulce a diferentes concentraciones de salinidad. Feby y Lutz (1987) han reportado costos de osmoregulación más bajos en agua de mar isosmótica (12 ups) aunque infieren, que a salinidades no isosmóticas, el comportamiento en las tasas metabólicas totales no podrían ser sólo atribuidas a los procesos osmorregulatorios y concluyen que otros factores tales como la permeabilidad de las células, los gradientes de concentración, pueden ocasionar que el comportamiento sea más difícil de predecir, por lo que se considera necesario realizar pruebas a nivel celular para explicar el comportamiento observado en el presente trabajo a salinidades superiores a 30 ups.

En este trabajo se determinó para la condición de agua de mar (35 ups) una tasa de consumo de oxígeno de $0,172 \pm 0,037$ mg $\text{O}_2/\text{g}/\text{h}$, valor que

Tabla 1. Tasa de consumo de oxígeno (mg $\text{O}_2/\text{g}/\text{h}$ en base seca) de juveniles de tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) aclimatada a diferentes salinidades

Table 1. Oxygen consumption rate (mg $\text{O}_2/\text{g}/\text{h}$ dry matter) of juvenile tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) acclimated to different salinities

Tratamiento (ups)	Tasa de consumo de oxígeno (mg $\text{O}_2/\text{g}/\text{h}$ en base seca)
0	0.230 ± 0.063^a
10	0.177 ± 0.050^b
20	0.244 ± 0.073^a
30	0.194 ± 0.045^b
35	0.172 ± 0.037^b

Letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos $p < 0,05$

representa el doble de lo reportado por Iwama *et al.* (1997) en juveniles de *O. mossambicus* (0,078 mg O₂/g/h), los autores sugieren que esta tasa de consumo baja se debe probablemente a que esta especie es capaz de sobrevivir en un amplio rango de salinidades; y que la respuesta está más relacionada con la salinidad del agua donde fueron capturados, en cambio los organismos de la presente investigación fueron obtenidos de una cruce entre *O. mossambicus* y *O. niloticus* obtenidas de agua dulce y probablemente su descendencia no muestra este comportamiento.

Diversos estudios han demostrado que la actividad enzimática digestiva en peces es afectada por varios factores tales como el alimento, peso, especie y salinidad (Hidalgo *et al.*, 1999; Tzusukiet *al.*, 2007). La tilapia es un pez que tiene la capacidad de digerir eficientemente un gran tipo de nutrientes, lo cual se puede atribuir a su actividad enzimática digestiva. En estudios recientes Wang *et al.* (2009) caracterizaron la tripsina purificada del intestino de tilapia nilótica, encontrando una temperatura óptima de 60 °C y pH de 9,0; Hinsui *et al.* (2006) encontraron los mismos resultados en su estudio. Sin embargo, el efecto *in vivo* de la salinidad del agua de cultivo sobre la actividad enzimática digestiva para tilapia no ha sido evaluado.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la actividad enzimática digestiva del tipo tripsina y α-amilasa de juveniles de tilapia aclimatada a diferentes salinidades. Se encontró un efecto significativo de la salinidad sobre la actividad enzimática del tipo α-amilasa, se observó una tendencia a disminuir en la actividad enzimática, a medida que aumentó la salinidad del agua de cultivo, siendo significativamente más alta en agua dulce, que al resto de las salinidades. Se observa que la actividad del tipo tripsina es significativamente mayor en agua dulce que a otras salinidades y se observa un incremento a 20 ups, para disminuir a 30 ups, sin embargo, se observa que a 10 ups, la actividad del tipo-tripsina es significativamente más baja, di-

cha salinidad es muy cercana al punto isosmótico de la tilapia; este comportamiento se ha observado en otros peces como lo reportaron Tzusuki *et al.* (2007). Los cambios en la actividad enzimática digestiva pueden influenciar la digestión y absorción de nutrientes tales como proteínas y carbohidratos. Moutou *et al.* (2004) sugieren que el efecto de la salinidad sobre la actividad enzimática digestiva en peces se debe principalmente al efecto en la activación de los zimógenos, más que a la producción de enzimas en sí, ya que dicha activación se lleva a cabo en el lumen intestinal, fuera de las células, donde la salinidad del medio las puede afectar.

La tasa de consumo de oxígeno y la actividad enzimática digestiva son indicadores de la capacidad de aprovechamiento de los nutrientes del alimento balanceado en organismos acuáticos (Moyano, 2006; Mamum *et al.*, 2007). Aunque la tilapia es uno de los organismos mayormente estudiados, dada las numerosas especies que existen e híbridos que se han producido es necesario conocer como es canalizada la energía del alimento en

Tabla 2. Actividad enzimática digestiva del tipo tripsina, α-amilasa y proteína soluble del intestino de juveniles de tilapia aclimatada a diferentes salinidades

Table 2. Digestive enzyme activities like-trypsin, α-amylase and intestine soluble protein in juvenile tilapia acclimated to different salinities

Salinidad (ups)	Proteína soluble mg/mL	Actividad tipo tripsina U/mg proteína	Actividad tipo α-amilasa U/mg proteína
0	2.3±0.3	2.1±0.29 ^a	0.87±0.15 ^a
10	2.8±0.1	0.7±0.15 ^c	0.42±0.03 ^b
20	1.5±0.0	1.8±0.20 ^b	0.31±0.05 ^{bc}
30	2.8±0.1	0.6±0.11 ^{cd}	0.12±0.02 ^c
35	3.7±0.3	0.4±0.07 ^d	0.27±0.00 ^c

Letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos p<0,05

combinación con otros parámetros como la salinidad y la temperatura y así estar en condiciones de realizar una selección adecuada de la especie de tilapia o híbrido a cultivar en agua dulce, salobre o de mar.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales de este estudio se puede concluir que las tasa de consumo de oxígeno de tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) y la actividad enzimática digestiva se ven afectadas por la salinidad; sin embargo esta información por sí sola no es suficiente para explicar el comportamiento encontrado, por lo que se requiere realizar estudios sobre los costos metabólicos del proceso de osmoregulación y el efecto en la fisiología digestiva de los organismos a estas salinidades.

REFERENCIAS

- Al-Amoundi M.M. 1987. Acclimation of commercially cultured *Oreochromis* species to seawater an experimental study. *Aquaculture*. 65: 333-342.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Erlanger, B.F., Kokowsky K. y Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrate of trypsin. *Arch. Biochemical Biophysics*. 95: 271-278.
- Febry, R. y Lutz, P. 1987. Energy partitioning in fish: the activity-related cost of osmoregulation in a euryhaline cichlid. *J. Exp. Biol.* 128: 63-85.
- Fiess, J.C., Kunkel-Patterson, A., Mathias, E., Riles, L.G., Yancey, P.H., Hirano, T. y Grau E.G. 2007. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 146: 252-264.
- Hidalgo, M.C., Urea, E. y Sanz, A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170: 267-283.
- Hinsui, J., Worawattanamateekul, W., Raksakulthai, N., y Rungrlerdkriangkrai, J. 2006. Characterization of Partial Purified Trypsin and Chymotrypsin from Viscera of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus). *KBsetsart J. (Nat. Sci.)*. 40: 242- 248.
- Iwama, G.K., Takemura, A. y Takano K. 1997. Oxygen consumption rates of tilapia in fresh water, sea water, and hypersaline sea water. *Journal of Fish Biology*. 51: 886-894.
- Kammerer, B.D. Cech, J.J. Jr. y Kültz, D. 2010. Rapid changes in plasma cortisol, osmolality, and respiration in response to salinity stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 157: 260-265.
- Kültz, D. y Onken H. 1993. Long-term acclimation of the teleost *Oreochromis mossambicus* to various salinities: two different strategies in mastering hypertonic stress. *Marine Biology*. 117, 527-533.
- Mamun, S. M., Focken, U. y Becker, K. 2007. Comparison of metabolic rates and feed nutrient digestibility in conventional, genetically improved (GIFT) and genetically male (GMNT) Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 148: 214-222
- Martínez, C.T.M. 2003. Adaptación y crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus* en agua salada. Tesis de doctorado. Universidad de Colima, Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. 82 p.
- Meade, M.A., Doeller, J.E. Kraus, D.W. y Watts, S.A. 2002. Effects of Temperature and Salinity on Weight Gain, Oxygen Consumption Rate, and Growth Efficiency in Juvenile Red-Claw Crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 33: 188-197 p.
- Mena-Herrera A., Sumano-López H. y Macías-Zamora, R. 2001. Efecto de la salinidad de tilapia híbrida *Oreochromis mossambicus* (Peters) x *Oreochromis niloticus* (Linnaeus), cultivadas bajo condiciones de laboratorio. *Veterinaria México*. 33 (1): 39-48.
- Moutou, K.A., Panagiotaki, P., Mamuris, Z. 2004. Effects of salinity on digestive activity in the euryhaline spard *Sparus aurata* L. a preliminary study. *Aquac. Res.* 35: 912-914.

- Moyano, L. F. 2006. Bioquímica digestiva en especies acuicultivadas: Aplicaciones en nutrición. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mazatlán, Sinaloa, 15-17 de Noviembre del 2006.
- Ocampo, V.L. 1998. Efecto del oxígeno disuelto y temperatura en el crecimiento, metabolismo respiratorio y energética de juveniles de camarón café. *Penaeus californiensis*. Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México.
- Sardella, B.A. y Brauner, C.J. 2008. The effect of elevated salinity on 'California' Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepishornorum*) metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C.* 148: 430:436.
- Tsuzuki, M.Y., Sugai, J.K., Maciel, J.C., Francisco, C.J. y Cerqueira, V.R. 2007. Survival, growth and digestive enzyme activity of juveniles of the fat snook (*Centroponus parallelus*) reared at different salinities. *Aquaculture.* 271: 319-325.
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H. y Civera, R. 1993. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis*. I. Properties of amylase activity in the digestive tract. *Comparative Biochemistry and Physiology.* 106 B: 547-550.
- Wang, P.J., Lin, Ch.H., Hwang, L.Y., Huang, Ch.L., Lee, T.H. y Hwang, P.P. 2009. Differential responses in gill of euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to various hyperosmotic shocks. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 152: 544-551.
- Xie, S., Cui, Y., Yang, Y. y Liu, J. 1997. Bioenergetics of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*: Effects of Food Ration Size on Metabolic Rate. *Asian Fisheries Science.* 10:155-162.