

Nota de Investigación/Research Note

Composición proximal y perfil de ácidos grasos de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*

Proximate composition and fatty acid profile of wild and cultured juvenile *Totoaba macdonaldi*

LM López^{1*}, E Durazo¹, A Rodríguez-Gómez¹, CD True¹, MT Viana²

¹ Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Apartado postal 453, Ensenada 22800, Baja California, México. * E-mail: llopez@uabc.mx.

² Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, Apartado postal 423, Ensenada 22800, Baja California, México.

Resumen

Se determinaron la composición proximal y el perfil de ácidos grasos en el tejido muscular y vísceras de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*, encontrándose diferencias en composición debido al origen de sus dietas. El ácido graso 20:4n-6 y la razón n-3/n-6 en el músculo de las totoabas silvestres resultaron significativamente mayores que los encontrados en las totoabas cultivadas; además, el nivel del ácido graso 18:2n-6 en el tejido muscular y vísceras de los peces cultivados fue significativamente mayor que el encontrado en organismos silvestres o en el alimento balanceado, sugiriendo una posible acumulación de este ácido graso de la fuente alimenticia, posiblemente debido a la incapacidad de alargar y desaturar los PUFAs C₁₈ a HUFAs C_{20/22}. La dieta natural de la totoaba parece contener una gran cantidad de HUFAs tipo n-3 y n-6. Se discuten las posibles necesidades nutricionales de la totoaba cultivada a fin de que estos organismos puedan alcanzar un perfil químico similar al observado en las totoabas silvestres.

Palabras clave: *Totoaba macdonaldi*, requerimientos, ácidos grasos, peces silvestres, peces cultivados.

Abstract

The proximate composition and fatty acid profile were determined in muscle tissue and viscera of wild and cultured *Totoaba macdonaldi* juveniles. Significant differences were found according to diet variations. The fatty acid 20:4n-6 and the n-3/n-6 ratio were significantly higher in wild totoaba than in the cultured organisms. In addition, the level of 18:2n-6 in muscle tissue and viscera of cultured totoaba was significantly higher than that found in the wild organisms, and even higher than the level found in the balanced diet, suggesting a possible accumulation of this fatty acid probably due to the inability to desaturate and elongate C₁₈ PUFAs to C_{20/22} HUFAs. The natural diet of totoaba seems to be rich in n-3 and n-6 HUFAs. The possible nutritional needs of cultured totoaba to obtain a chemical profile similar to that observed in wild organisms are discussed.

Key words: *Totoaba macdonaldi*, requirements, fatty acids, wild fish, cultured fish.

Introducción

Totoaba macdonaldi es un pez endémico del Golfo de California y el de mayor talla entre los miembros de la familia Sciaenidae (Cisneros-Mata *et al.* 1997). Ha sido incluida en la lista de especies en peligro de extinción (CITES 2005) y se han dedicado importantes esfuerzos a su repoblación mediante su reproducción en cautiverio; sin embargo, la maduración y reproducción que se han logrado en la totoaba cultivada han sido en general limitadas, lo que podría atribuirse a una pobre alimentación o mal manejo.

Rodríguez *et al.* (2004) atribuyeron a las dietas artificiales la incapacidad para lograr que organismos maduros silvestres de la chopra *Spondyllosoma cantharus* desovaran, a pesar de haber obtenido las tasas de crecimiento y supervivencia deseadas. Por otro lado, se ha reportado que juveniles silvestres de

Introduction

Totoaba macdonaldi is an endemic fish of the Gulf of California and it is considered the largest member of the family Sciaenidae (Cisneros-Mata *et al.* 1997). This fish species has been included in the list of endangered species (CITES 2005) and important efforts have been focused on its repopulation through reproduction in captivity; however, in general, limited maturation and reproduction have been obtained in cultured totoaba, a problem that could be attributed to poor nutrition or mismanagement.

Rodríguez *et al.* (2004) attributed artificial diets the inability to get mature undomesticated black seabream to spawn, despite obtaining desirable growth and survival rates. On the other hand, it has been reported that wild juvenile totoaba consume diets with high protein levels and moderate

totoaba consumen dietas con niveles altos de proteínas y moderados contenidos de lípidos (Flanagan y Hendrickson 1976, Román-Rodríguez 1990, Cisneros-Mata *et al.* 1995). En este trabajo se determinaron la composición proximal y la composición de ácidos grasos de ejemplares silvestres y cultivados de *T. macdonaldi*, de talla similar, con el fin de conocer mejor los requerimientos nutricionales de esta especie amenazada y así poder formular mejores dietas para su reproducción en cautiverio.

Material y métodos

Organismos

Se seleccionaron veintitres totoabas juveniles silvestres de dos diferentes clases de talla (22.1 ± 3.5 cm, 102.4 ± 47.5 g) de entre ejemplares silvestres obtenidos en julio y agosto de 2002 (con temperatura del agua que varió de 28.7°C a 31°C). Los organismos fueron etiquetados e inmediatamente congelados (-20°C) hasta su posterior análisis y sus estómagos fueron extraídos, y analizando cuidadosamente el contenido de presas y su composición proximal.

Asimismo, se obtuvieron 14 totoabas juveniles cultivadas (27.7 ± 3.4 cm, 200.1 ± 82.5 g) de un mismo desove en la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California en Ensenada, México (verano de 2001), las cuales fueron alimentadas durante un año con una dieta formulada comercial (EWOS Canada Ltd.) utilizada frecuentemente en el cultivo de peces marinos ($66.9 \pm 1.4\%$ de proteína, $15.2 \pm 1.4\%$ de lípidos, $5.9 \pm 0.41\%$ de ceniza y 5.54 ± 0.046 kcal g^{-1} de energía; peso seco). De todos los peces recolectados se tomaron muestras de músculo y de las vísceras, las cuales fueron congeladas hasta su posterior análisis.

Análisis químicos

Composición proximal

Se analizaron, por triplicado, las muestras de músculo y vísceras, el contenido estomacal de los organismos silvestres y la dieta comercial utilizada. Después de secar las muestras a 100°C hasta obtener peso constante, se calculó el porcentaje de peso seco. El nitrógeno total se determinó usando el método de Kjeldhal y se multiplicó por 6.25 para estimar el contenido de proteína cruda (AOAC 1995). El promedio de lípidos totales se determinó mediante extracción con cloroformo-metanol (2:1 v/v) según el método de extracción de Folch *et al.* (1957). Para determinar el contenido medio de cenizas, se sometieron las muestras a 550°C durante 18 h. El contenido de energía bruta se determinó mediante combustión directa en una bomba calorimétrica adiabática (Parr 1281, EUA).

Composición de ácidos grasos

Los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES por sus siglas en inglés) del total de lípidos en el tejido muscular, la

lipid content (Flanagan and Hendrickson 1976, Román-Rodríguez 1990, Cisneros-Mata *et al.* 1995). In this work, the proximate and fatty acid compositions of similar-sized wild and cultured *T. macdonaldi* were determined in order to know better the nutritional requirements of this endangered species and thus be able to formulate better diets for its reproduction in captivity.

Material and methods

Organisms

Twenty-three wild totoaba juveniles were selected of two size ranges (22.1 ± 3.5 cm, 102.4 ± 47.5 g) from a pool wild fish obtained during July and August 2002 (water temperature ranged from 28.7°C to 31°C). Organisms were tagged and immediately frozen (-20°C) for further analysis. Stomachs were collected and carefully analyzed for prey content and proximate composition.

Fourteen cultured juvenile totoaba (27.7 ± 3.4 cm, 200.1 ± 82.5 g) were obtained from a single spawn at the Faculty of Marine Sciences of the Autonomous University of Baja California at Ensenada, Mexico (summer 2001). The organisms were fed for a whole year with a formulated commercial diet (EWOS Canada Ltd.) commonly used to culture marine fish ($66.9 \pm 1.4\%$ protein, $15.2 \pm 1.4\%$ lipids, $5.9 \pm 0.41\%$ ash and 5.54 ± 0.046 kcal g^{-1} energy; dry matter). Samples of muscle and whole viscera were collected from these organisms and frozen until further analysis.

Chemical analyses

Proximate composition

Samples of muscle and whole viscera from the cultured specimens, stomach content from wild organisms and the commercial diet were analyzed in triplicate. Percent dry weight was calculated after drying to constant weight at 100°C . Total nitrogen was determined by the Kjeldhal method and multiplied by 6.25 to estimate crude protein content (AOAC 1995). Mean total lipid was determined by extraction using chloroform-methanol (2:1 v/v) following the extraction method of Folch *et al.* (1957). Mean ash content was determined by heating samples to 550°C for 18 h. The gross energy content of sample tissues was determined by direct combustion in an adiabatic calorimeter bomb (Parr 1281, USA).

Fatty acid composition

The fatty acid methyl esters (FAMES) from the total lipid content of muscle, viscera, stomach content and formulated diet were prepared according to Christie (2003) and analyzed in a Hewlett Packard 5890II gas chromatograph equipped with a flame ionization detector and capillary column (Supelco OmegawaxTM 320; 30 m $\times$ 0.32 mm, film thickness 0.25 μm), using hydrogen as the carrier gas. The initial oven temperature

viscera, el contenido estomacal y la dieta formulada se prepararon de acuerdo con Christie (2003). Los FAMES se analizaron en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890II equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar (Supelco Omegawax^{MR} 320; 30 m × 0.32 mm, 0.25 µm de espesor de película), usando hidrógeno como gas transportador. La temperatura inicial del horno fue de 140°C. Cinco minutos después de la inyección de la muestra (1 mL), la temperatura se aumentó a 240°C a razón de 4°C min⁻¹ y se mantuvo por 10 min más. Los ácidos grasos fueron identificados comparando sus tiempos de retención con los de estándares (37 Component FAME Mix, Supelco/Sigma Aldrich; GLC 87, GLC 96, Nu-Chek Prep) y perfiles bien caracterizados de muestras de aceites marinos (PUFA1 y PUFA3, Supelco/Sigma Aldrich). Cada concentración de ácidos grasos se calculó a partir del área correspondiente en el cromatograma usando un estándar interno (19:0) y la paquetería HP ChemStation rev. A.06 para Windows.

Análisis estadístico

La composición proximal y los perfiles de ácidos grasos de las distintas muestras (organismos silvestres y cultivados) se determinaron mediante un análisis de varianza de una vía, seguido de una prueba de comparaciones múltiples SNK a $P < 0.05$ (Zar 1999). Los valores porcentuales fueron transformados a la raíz cuadrada del arcoseno antes del análisis. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando Sigma Stat 2.0.

Resultados

Se encontraron diferencias en los contenidos de lípidos y energía en el tejido muscular entre los especímenes de *T. macdonaldi* silvestres y los cultivados, siendo menores en los primeros que en los segundos (tabla 1). Las diferencias fueron aún mayores en las vísceras, siendo más altos los contenidos de materia seca, proteína cruda y cenizas en las totoabas silvestres que en las cultivadas, mientras que los contenidos de lípidos y energía fueron significativamente menores (tabla 1).

La composición proximal del contenido estomacal de las totoabas silvestres y los camarones silvestres, encontrados

was 140°C. Five minutes after injection of the sample (1 mL), the temperature was increased to 240°C at a rate of 4°C min⁻¹ and then maintained for an additional 10 min. Fatty acids were identified by comparing the retention times to those of standards (37 Component FAME Mix, Supelco/Sigma Aldrich; GLC 87, GLC 96, Nu-Chek Prep) and well-characterized profiles of samples of marine oils (PUFA1 and PUFA3, Supelco/Sigma Aldrich). Each fatty acid concentration was calculated from the corresponding area in the chromatogram using an internal standard (19:0) and the software package HP ChemStation rev. A.06 for Windows.

Statistical analysis

The proximate composition and fatty acid profiles of the different samples (wild and cultured organisms) were analyzed using a one-way ANOVA, followed by a SNK multiple comparisons test at $P < 0.05$ (Zar 1999). Percentage values were transformed in arc sen before analysis. All statistical analyses were performed using Sigma Stat 2.0 procedures.

Results

Differences were found in lipid and energy contents in muscle tissue between wild and cultured *T. macdonaldi*, the former having lower levels than the latter (table 1). Even greater differences were observed in viscera, wild totoaba showing higher dry matter, crude protein and ash contents than cultured organisms, whereas lipid and energy contents were significantly lower (table 1).

The proximate composition of the stomach content from wild totoaba and the wild shrimps found as main prey in the stomach content, was significantly lower in lipid and energy contents when compared with the formulated diet (table 2).

Significant differences in fatty acid composition were found in muscle tissue (table 3). The contents of 14:0, 16:2n-6, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:1n-7 and 20:5n-3 fatty acids were significantly higher in cultured organisms than in wild juveniles, while the muscle of wild totoaba contained significantly higher levels of fatty acids 16:1n-7, 18:0, 20:0, 20:4n-6 and 22:0 than those observed in cultured organisms.

Tabla 1. Composición proximal (en base a materia seca) del tejido muscular y vísceras de juveniles silvestres ($n = 23$) y cultivados de un año de edad ($n = 14$) de *Totoaba macdonaldi*. Las medias ($\pm$ error estándar) en el mismo renglón con diferentes letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Table 1. Proximate composition (dry matter basis) of muscle and viscera of wild juvenile ($n = 23$) and cultured one-year-old ($n = 14$) *Totoaba macdonaldi*. Means ($\pm$ SE) in the same row with different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

Composition	Muscle		Viscera	
	Wild	Cultured	Wild	Cultured
Crude protein	86.2 $\pm$ 2.1	87.8 $\pm$ 0.9	48.7 $\pm$ 1.1 ^a	30.3 $\pm$ 1.1 ^b
Total lipid	3.2 $\pm$ 0.1 ^a	5.5 $\pm$ 0.8 ^b	19.5 $\pm$ 1.4 ^b	45.0 $\pm$ 1.2 ^a
Ash	8.5 $\pm$ 0.6 ^a	5.3 $\pm$ 0.2 ^b	15.8 $\pm$ 1.2 ^a	12.6 $\pm$ 1.1 ^b
Energy (kcal g ⁻¹)	5.3 $\pm$ 0.04 ^a	5.6 $\pm$ 0.03 ^b	5.3 $\pm$ 0.06 ^b	6.5 $\pm$ 0.04 ^a

Tabla 2. Composición proximal (en base a materia seca) del contenido estomacal de juveniles silvestres de *Totoaba macdonaldi* ($n = 23$), de la dieta formulada y de la presa principal encontrada en el estómago de juveniles silvestres ($n = 14$). Las medias ($\pm$ error estándar) en el mismo renglón con diferentes letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Table 2. Proximate composition (dry matter basis) of the stomach content from wild juvenile *Totoaba macdonaldi* ($n = 23$), of the formulated diet and of the main prey item found in the stomach of wild juvenile totoaba ($n = 14$). Means ($\pm$ SE) in the same row with different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

Composition	Stomach content	Formulated diet	Wild shrimp
Crude protein	68.8 $\pm$ 1.5	66.9 $\pm$ 1.4	72.6 $\pm$ 3.2
Total lipid	8.8 $\pm$ 0.6 ^b	15.2 $\pm$ 1.4 ^a	4.2 $\pm$ 0.4 ^c
Ash	18.0 $\pm$ 1.4 ^a	5.9 $\pm$ 0.4 ^b	16.9 $\pm$ 1.2 ^a
Energy (kcal g ⁻¹ *)	4.5 $\pm$ 0.1 ^b	5.5 $\pm$ 0.1 ^a	4.7 $\pm$ 0.1 ^c
Energy:protein (kcal g ⁻¹)	7.2 $\pm$ 0.1 ^b	8.3 $\pm$ 0.1 ^a	6.5 $\pm$ 0.2 ^c

como principal presa en el contenido estomacal, fue considerablemente menor en cuanto a los contenidos de lípidos y energía en comparación con la dieta formulada (tabla 2).

Se encontraron diferencias significativas en la composición de ácidos grasos en el tejido muscular (tabla 3). Los contenidos de ácidos grasos 14:0, 16:2n-6, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:1n-7 y 20:5n-3 fueron significativamente mayores en los organismos cultivados que en los juveniles silvestres, mientras que los niveles de ácidos grasos 16:1n-7, 18:0, 20:0, 20:4n-6 y 22:0 fueron considerablemente mayores en los peces silvestres que en los cultivados. El músculo de los organismos silvestres presentó mayor contenido de ácidos grasos saturados (36.2%) que el de las totoabas cultivadas (17.6%); sin embargo, el contenido de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs por sus siglas en inglés) fue mayor en los organismos cultivados (35.5%) que en los silvestres (24.5%). Es importante mencionar que el contenido de ácido araquidónico (20:4n-6) en el músculo de las totoabas silvestres fue 3.7 veces mayor que en las cultivadas, mientras que el contenido de ácido linoleico (18:2n-6) en los organismos silvestres fue 15 veces menor que en los cultivados (tabla 3).

El perfil de ácidos grasos en la muestra de vísceras (tabla 3) mostró que los ácidos grasos saturados fueron significativamente mayores en los peces silvestres (52.3%) que en los cultivados (22.8%), y que los PUFAs fueron casi 5 veces mayores en los cultivados (26.5%) que en los silvestres (5.5%). Al igual que en el músculo, el contenido de ácido araquidónico en las vísceras fue menor en los individuos cultivados, mientras que el de ácido linoleico fue 35 veces mayor en los peces cultivados que en los silvestres.

Finalmente, la composición de ácidos grasos mostró mayores concentraciones de ácidos 16:0, 16:1n-7, 17:0, 18:0, 20:1n-9 y 20:4n-6 en el contenido estomacal que en la dieta formulada. Al contrario, los valores de ácidos 14:0, 18:2n-6, 20:0, 20:1n-7, 22:1n-9, 22:6n-3 y la razón n-3/n-6 fueron mayores en la dieta formulada que en el contenido estomacal (tabla 4).

The saturated fatty acid content in muscle was higher in wild organisms (36.2%) than in cultured fish (17.6%). Contrarily, the content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in muscle tissue was higher in cultured organisms (35.5%) than in wild ones (24.5%). It is important to point out that the arachidonic acid (20:4n-6) content in muscle from wild totoaba was 3.7 times higher than in cultured fish, while the linoleic acid (18:2n-6) content in wild organisms was 15 times lower than in those cultured (table 3).

The fatty acid composition of viscera (table 3) showed that saturated fatty acids were significantly higher in wild fish (52.3%) than in cultured totoaba (22.8%). On the other hand, PUFAs were almost 5 times higher in cultured (26.5%) than in wild (5.5%) organisms. As in muscle, the viscera content of arachidonic acid in cultured fish was lower, and linoleic acid content was 35 times higher than in viscera from wild totoaba.

Finally, the fatty acid composition of the stomach content from wild totoaba showed higher amounts of 16:0, 16:1n-7, 17:0, 18:0, 20:1n-9 and 20:4n-6 when compared with those of the formulated diet. Contrarily, the formulated diet showed higher values of 14:0, 18:2n-6, 20:0, 20:1n-7, 22:1n-9, 22:6n-3 and the n-3/n-6 ratio than the stomach content (table 4).

Discussion

The differences recorded in lipid content and fatty acid composition in muscle and viscera (tables 1, 3) of wild and cultured totoaba could be attributed to diet differences. Lipids can be used as carbon and energy sources, but this generally only occurs after the exhaustion of another energy supply. Lipids can be deposited directly as ingested or after being modified (elongated and/or desaturated). Lipid contents of muscle and viscera were higher in cultured totoaba than in wild organisms (table 1). This difference was also reported by Rodríguez *et al.* (2004) for black seabream fed high lipid diets. Lipid accumulation in cultured black seabream was 2.5 times higher than that found in wild fish, in agreement with our results for totoaba, in which lipid accumulation was 2.2 times higher in cultured organisms.

Tabla 3. Composición de ácidos grasos (porcentaje en peso) de los lípidos totales en el tejido muscular y vísceras de juveniles silvestres y cultivados de un año de edad de *Totoaba macdonaldi*. Las medias ($\pm$ error estándar) en el mismo renglón con diferentes letras son significativamente diferentes ($P < 0.05$). Contenidos trazas se muestran entre paréntesis. **Table 3.** Fatty acid composition (percentage by weight) of total lipids from muscle and viscera of wild juvenile and cultured one-year-old *Totoaba macdonaldi*. Means ($\pm$ SE) in the same row with different superscript are significantly different ($P < 0.05$). Trace contents are shown in parenthesis.

Fatty acid	Muscle		Viscera	
	Wild	Cultured	Wild	Cultured
14:0	0.30 $\pm$ 0.06 ^b	2.58 $\pm$ 0.12 ^a	1.03 $\pm$ 0.08 ^b	4.40 $\pm$ 0.17 ^a
16:0	19.70 $\pm$ 0.47 ^a	4.75 $\pm$ 0.15 ^b	33.89 $\pm$ 0.99 ^a	9.70 $\pm$ 0.25 ^b
16:1n-7	2.90 $\pm$ 0.22 ^a	0.14 $\pm$ 0.09 ^b	7.09 $\pm$ 0.92 ^a	0.62 $\pm$ 0.02 ^b
16:2n-6	0.16 $\pm$ 0.06 ^b	0.69 $\pm$ 0.05 ^a	0.86 $\pm$ 0.08	0.99 $\pm$ 0.05
17:0	Trace (<0.01%)	0.21 $\pm$ 0.09	2.41 $\pm$ 0.24 ^a	0.48 $\pm$ 0.02 ^b
18:0	11.17 $\pm$ 0.2 ^a	8.00 $\pm$ 0.25 ^b	13.79 $\pm$ 0.86 ^a	6.42 $\pm$ 0.26 ^b
18:1n-9	8.84 $\pm$ 0.27 ^b	14.23 $\pm$ 0.38 ^a	14.04 $\pm$ 0.77 ^b	17.19 $\pm$ 0.22 ^a
18:1n-7	3.37 $\pm$ 0.07 ^b	4.73 $\pm$ 0.28 ^a	4.10 $\pm$ 0.15 ^b	5.02 $\pm$ 0.08 ^a
18:2n-6	0.84 $\pm$ 0.05 ^b	12.92 $\pm$ 0.22 ^a	0.40 $\pm$ 0.06 ^b	14.14 $\pm$ 0.27 ^a
18:3n-6	0.07 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.20	0.05 $\pm$ 0.01 ^b	0.44 $\pm$ 0.06 ^a
18:3n-3	0.06 $\pm$ 0.02 ^b	0.67 $\pm$ 0.04 ^a	0.03 $\pm$ 0.01 ^b	0.79 $\pm$ 0.04 ^a
20:0	1.41 $\pm$ 0.18 ^a	0.31 $\pm$ 0.13 ^b	0.66 $\pm$ 0.05	0.55 $\pm$ 0.02
20:1n-9	0.67 $\pm$ 0.09	0.57 $\pm$ 0.26	0.41 $\pm$ 0.05 ^b	0.92 $\pm$ 0.12 ^a
20:1n7	0.84 $\pm$ 0.13 ^b	1.63 $\pm$ 0.12 ^a	1.45 $\pm$ 0.10 ^b	2.28 $\pm$ 0.03 ^a
20:4n-6	5.97 $\pm$ 0.32 ^a	1.60 $\pm$ 0.06 ^b	1.33 $\pm$ 0.21	0.93 $\pm$ 0.05
20:5n-3	4.13 $\pm$ 0.25 ^b	6.57 $\pm$ 0.21 ^a	0.52 $\pm$ 0.08 ^b	4.52 $\pm$ 0.19 ^a
22:0	3.62 $\pm$ 0.46 ^a	1.76 $\pm$ 0.44 ^b	0.57 $\pm$ 0.05 ^b	1.28 $\pm$ 0.17 ^a
22:1n-11	0.22 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.13	0.09 $\pm$ 0.04 ^b	0.46 $\pm$ 0.03 ^a
22:1n-9	0.97 $\pm$ 0.11	1.11 $\pm$ 0.16	0.24 $\pm$ 0.03 ^b	0.99 $\pm$ 0.05 ^a
22:5n-3	2.15 $\pm$ 0.17	1.70 $\pm$ 0.15	0.44 $\pm$ 0.06 ^b	1.28 $\pm$ 0.09 ^a
22:6n-3	11.13 $\pm$ 0.92	11.07 $\pm$ 0.76	1.86 $\pm$ 0.25 ^b	3.41 $\pm$ 0.22 ^a
n-3/n-6	2.47 $\pm$ 0.08 ^a	1.42 $\pm$ 0.07 ^b	1.16 $\pm$ 0.09 ^a	0.72 $\pm$ 0.02 ^b

Discusión

Las diferencias registradas en cuanto al contenido de lípidos y la composición de ácidos grasos en músculo y vísceras de las totoabas cultivadas y las silvestres (tablas 1, 3) pueden atribuirse a diferencias en la dieta. Los lípidos pueden ser usados como fuentes de carbono y energía, pero esto suele suceder sólo después de que se agotan otras fuentes de energía. Los lípidos se pueden depositar directamente al ingerirse o después de ser modificados (alargados y/o desaturados). Los contenidos de lípidos en músculo y vísceras fueron mayores en los peces cultivados que en los silvestres (tabla 1). Esta diferencia también ha sido mencionada por Rodríguez *et al.* (2004), quienes

It is well known that dietary fatty acids can have an impact on the fatty acid content in muscle tissue of marine fish species (Dunstan *et al.* 1988, Jobling *et al.* 1998, Oliva-Teles 2000). According to the fatty acid analysis, a higher n-3/n-6 ratio was found in the formulated diet when compared with profiles from the stomach content. The importance of the fatty acid profile of the diet can be deduced from the experiments with black seabream fed high lipid diets, where detrimental effects in their spawning activity were detected; nonetheless, growth was good with a low feed conversion rate and high survival rate (Rodríguez *et al.* 2004). Furthermore, cultured totoaba showed an elevated amount of 18:2n-6 fatty acid in muscle, even higher than that found in the formulated diet, whereas the

encontraron que la acumulación de lípidos en individuos de *S. cantharus* alimentados con dietas altas en lípidos fue 2.5 veces mayor en los organismos cultivados que en los silvestres. Esto concuerda con nuestros resultados para *T. macdonaldi* dado que la acumulación de lípidos resultó 2.2 veces mayor en los peces cultivados.

Es bien conocido que los ácidos grasos de la dieta pueden afectar el contenido de ácidos grasos en el tejido muscular de los peces marinos (Dunstan *et al.* 1988, Jobling *et al.* 1998, Oliva-Teles 2000). De acuerdo con el análisis de ácidos grasos, la razón n-3/n-6 fue mayor en la dieta formulada que en los perfiles del contenido estomacal. La importancia de la composición de ácidos grasos en la dieta fue evidenciada en el trabajo sobre *S. cantharus* alimentado con una dieta alta en lípidos, la cual mostró efectos negativos en el desove; sin embargo, el crecimiento fue bueno, con una tasa de conversión de alimento baja y tasa de supervivencia alta (Rodríguez *et al.* 2004). De igual manera, las totoabas cultivadas presentaron una gran cantidad de ácido graso 18:2n-6 en el tejido muscular, aún mayor que la encontrada en la dieta formulada, mientras que el nivel de ácido 20:4n-6 fue menor que el detectado en los organismos silvestres. El ácido araquidónico (20:4n6) es un ácido graso esencial, siendo un precursor de las prostaglandinas necesarias para la reproducción y, por tanto, su baja presencia en comparación con la del ácido eicosapentanoico (20:5n3) puede ser responsable de un pobre desempeño reproductivo (Bell *et al.* 1996). Con base en estos resultados, los organismos alimentados con una dieta artificial aparentemente acumularon ácido linoleico, ya que algunos peces marinos son incapaces de producir ácidos grasos insaturados (HUFAs) a partir de PUFAs a una tasa fisiológicamente significativa debido a deficiencias aparentes en uno o más pasos del proceso (Zheng *et al.* 2004); sin embargo, esto debería tomarse con cuidado ya que se requieren estudios adicionales para poder determinar una posible limitación para convertir PUFAs C₁₈ a HUFAs C_{20/22}.

Finalmente, como ya se mencionó anteriormente, no se ha logrado obtener un desove confiable y exitoso de las totoabas en cautiverio, lo cual puede ser el resultado de una gran acumulación de lípidos y un pobre abastecimiento de ácidos grasos, especialmente de los necesarios para la reproducción. Para alcanzar el éxito en el cultivo de esta especie en peligro de extinción, parece importante contar con una dieta formulada con bajo contenido de lípidos, alto contenido de HUFAs tipo n-3 y n-6, y una fuente adecuada de ácido graso 20:4n-6.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), proyecto 139162-B. Agradecemos a Vinicio Macías (Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California) el uso del cromatógrafo de gas.

Traducido al español por Christine Harris.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos (porcentaje en peso) de los lípidos totales en el contenido estomacal de juveniles silvestres de *Totoaba macdonaldi* (n = 23) y la dieta formulada (media $\pm$ error estándar).

Table 4. Fatty acid composition (percentage by weight) of total lipids from the stomach content of wild juvenile *Totoaba macdonaldi* (n = 23) and the formulated diet (mean $\pm$ SE).

Fatty acid	Stomach content	Formulated diet
14:0	0.86 $\pm$ 0.10	7.24 $\pm$ 0.17
15:0	0.56 $\pm$ 0.14	18.95 $\pm$ 0.12
16:0	18.22 $\pm$ 0.73	7.10 $\pm$ 0.10
16:1n-7	4.43 $\pm$ 0.22	0.72 $\pm$ 0.04
16:2n-6	0.64 $\pm$ 0.08	0.64 $\pm$ 0.02
17:0	2.35 $\pm$ 0.14	nd
18:0	11.68 $\pm$ 0.61	4.60 $\pm$ 0.10
18:1n-9	9.69 $\pm$ 0.52	11.10 $\pm$ 0.11
18:1n-7	3.54 $\pm$ 0.21	2.81 $\pm$ 0.12
18:2n-6	0.86 $\pm$ 0.08	2.08 $\pm$ 0.05
18:3n-3	0.07 $\pm$ 0.03	0.78 $\pm$ 0.02
20:0	0.51 $\pm$ 0.05	2.42 $\pm$ 0.05
20:1n-9	0.92 $\pm$ 0.21	nd
20:1n-7	0.68 $\pm$ 0.09	2.59 $\pm$ 0.08
20:4n-6	4.95 $\pm$ 0.43	0.82 $\pm$ 0.06
20:5n-3	5.87 $\pm$ 0.63	6.47 $\pm$ 0.14
22:0	0.53 $\pm$ 0.08	0.90 $\pm$ 0.02
22:1n-9	0.04 $\pm$ 0.02	2.26 $\pm$ 0.12
22:5n-3	1.75 $\pm$ 0.37	1.65 $\pm$ 0.09
22:6n-3	8.54 $\pm$ 0.70	12.04 $\pm$ 0.29
n-3/n-6	2.77 $\pm$ 0.38	10.83 $\pm$ 0.20

nd: not detected

amount of 20:4n-6 was lower than that found in the wild ones. Arachidonic acid (20:4n6) is an essential fatty acid, being a precursor of prostaglandins needed for reproduction, and this low presence compared to eicosapentanoic acid (20:5n3) could therefore be responsible for a poor reproductive performance (Bell *et al.* 1996). Based on these results, the organisms fed an artificial diet apparently accumulated linoleic acid since it seems that some marine fish are unable to produce highly unsaturated fatty acids (HUFAs) from PUFAs at a physiologically significant rate due to apparent deficiencies in one or more steps of the pathway (Zheng *et al.* 2004); however, this should be taken carefully and further studies are needed in order to conclude a possible limitation to convert from C₁₈ PUFA to C_{20/22} HUFA.

Finally, as previously mentioned, totoaba in captivity have shown a null steady spawning success. This low performance may be due to the high lipid accumulation and a poor fatty acid supply, especially fatty acids needed for reproduction. In order

Referencias

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC. Vol. 1. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Bell M, Dick JR, Thrush M, Navarro JC. 1996. Decreased 20:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* 144: 189–199.
- Cisneros-Mata MA, Montemayor-López G, Román-Rodríguez MJ. 1995. Life history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conserv. Biol.* 9(4): 806–814.
- Cisneros-Mata M, Botsford LW, Quinn JF. 1997. Projecting of *Totoaba macdonaldi*, a population with unknown age-dependent variability. *Ecol. Appl.* 7: 968–980.
- CITES. 2005. Appendices I, II and III (12/01/2005). Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Geneva, Switzerland, 49 pp.
- Christie WW. 2003. Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids. 3rd ed. The Oily Press, Bridgewater, UK, 417 pp.
- Dunstan GA, Sinclair AJ, O'Dea K, Naughton JM. 1988. The lipid content and fatty acid composition of various marine species from southern Australian coastal waters. *Comp. Biochem. Physiol.* 91(B): 165–169.
- Flanagan CA, Hendrickson JR. 1976. Observation on the commercial fishery and reproductive biology of the totoaba *Cynoscion macdonaldi*, in the northern Gulf of California. *Fish. Bull.* 74: 531–544.
- Folch J, Lees M, Stanley G. 1957. A simple method of the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497–509.
- Jobling M, Koskela J, Savolainen R. 1998. Influence of dietary fat level and increased adiposity on growth and fat deposition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacult. Res.* 29: 601–607.
- to have success in the culture of this endangered fish, it seems important to have a diet formulated with a low lipid content, a high content of n-3 and n-6 HUFAs, and a proper source of 20:4n-6 fatty acid.

Acknowledgements

This work was supported by the Mexican Council of Science and Technology (CONACYT), project 139162-B. The authors thank Vinicio Macías (Institute of Oceanological Research, University of Baja California) for the use of the gas chromatograph.

Oliva-Teles A. 2000. Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. *Aquacult. Int.* 8: 477–492.

Rodríguez C, Acosta C, Badía P, Cejas JR, Santamaría FJ, Lorenzo A. 2004. Assessment of lipid and essential fatty acid requirements of black seabream (*Spondyliosoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 139(B): 619–629.

Román-Rodríguez MJ. 1990. Alimentación de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert) en la parte norte del Alto Golfo de California. *Ecológica*, 1: 1–9.

Zar JH. 1999. Biostatistical Analysis. 4th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 663 pp.

Zheng X, Seilliez I, Hastings N, Tocher DR, Panserat S, Dickson CA, Bergot P, Teale AJ. 2004. Characterization and comparison of fatty acyl D6 desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species. *Comp. Biochem. Physiol.* 139(B): 269–279.

*Recibido en junio de 2005;
aceptado en enero de 2006.*