



Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Marinas



**CRECIMIENTO Y RESPUESTA HEMATOLÓGICA DE JUVENILES DE
CORVINA BLANCA (*Atractoscion nobilis*) ALIMENTADOS CON DIETAS
CON DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA DIGESTIBLE
SUPLEMENTADAS CON ALMIDÓN Y UN PROBIÓTICO**

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en Oceanografía Costera

Presenta

María Isaura Bañuelos Vargas

Ensenada Baja California, México, octubre de 2009.

CRECIMIENTO Y RESPUESTA HEMATOLÓGICA DE JUVENILES DE
CORVINA BLANCA (*Atractoscion nobilis*) ALIMENTADOS CON DIETAS CON
DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA DIGESTIBLE SUPLEMENTADAS CON
ALMIDÓN Y UN PROBIÓTICO

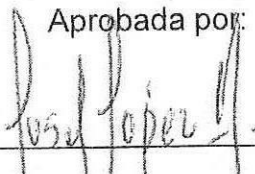
TESIS

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

Presenta

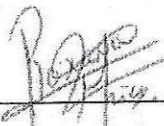
MARÍA ISAURA BAÑUELOS VARGAS

Aprobada por:



Director de tesis

Dra. Lus M. López Acuña



Sinodal propietario

Dra. Roxana Rico Mora



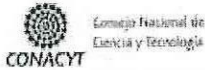
Sinodal propietario

Dra. Maricela Flores Ibarra



Sinodal propietario

Dr. Eduardo Durazo Beltrán



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, por abrir las puertas de su Institución y permitirme crecer profesionalmente.

A la Facultad de Ciencias Marinas por brindarme los recursos académicos e instalaciones necesarios para el desarrollo de esta investigación.

Al CONACYT por otorgarme una beca para realizar mis estudios de maestría.

A la Dra. Lus M. López Acuña, quien ha a través de sus conocimientos, disciplina, tiempo, mucha paciencia y sincera amistad me ha dado la oportunidad de desarrollar mi potencial profesional.

A la Dra. Maricela Flores Ibarra por su valioso apoyo y sus consejos durante la etapa de muestreo y análisis hematológico.

A la Dra. Roxana Rico Mora y el Dr. Eduardo Durazo Beltrán, por sus importantes contribuciones para el mejoramiento de este trabajo.

Al Dr. Jorge Olmos quien proporcionó los probióticos utilizados en el presente estudio.

Al personal de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (Conal, Gerardo, Ivan y Miguel) por su apoyo oportuno durante el desarrollo del experimento.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en particular a la Facultad de Ciencias de Mar, por el apoyo económico brindado para concentrar mi potencial en este proyecto.

A Emmanuel Martínez Montaña, quien me ha brindado lo mejor de sí en cada momento de dificultad, así como su valiosa ayuda en las diferentes etapas de este proyecto. Gracias Amor.

A mis compañeros y amigos del laboratorio Mario, Karla, Idaly, Lili, Abigail, y a todos los estudiantes quienes ayudaron a lograr este importante estudio.

A mi familia (Tíos, primos y sobrinos) de Ensenada, personas nobles que me abrieron las puertas de su casa haciendo más agradable mi estancia en este lugar.

MUCHAS GRACIAS

DEDICATORIA

A mis Padres y Hermana, quienes me envían sus bendiciones a donde quiera las alas de mis sueños me lleven.

A la Familia Vázquez González, quienes han sido, son y seguirán siendo mi fuente de inspiración y fortaleza para seguir adelante.

A DIOS, por darme la oportunidad de conocer y estar con las personas, en el momento y en el lugar indicado, especialmente, por darme fuerza, voluntad y paciencia para terminar esta importante etapa de mi vida.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Crecimiento y respuesta hematológica de juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementadas con almidón y un probiótico.

María Isaura Bañuelos Vargas

RESUMEN

Las fuentes proteicas representan el mayor costo asociado a la formulación de dietas para peces carnívoros, por este motivo, el presente trabajo evaluó el crecimiento y respuesta hematológica de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementadas con almidón y un probiótico. Los organismos se cultivaron durante 8 semanas y se alimentaron con cuatro dietas isoproteicas e isoenergéticas con 44 %, 40 %, 34 % y 29 % de proteína digestible (identificadas como D44, D40, D34 y D29, respectivamente) y adicionadas con 22 % de almidón y un probiótico; así como una dieta control (DC) con 49 % de proteína digestible y sin probióticos. Biometrías de peso y longitud fueron realizadas al inicio, en la cuarta y octava semanas. Al final del bioensayo fueron determinadas la supervivencia, la tasa de crecimiento específico (TCE), el índice hepatosomático (IHS); además se estimó ingestión diaria de alimento (IDA), la tasa de conversión alimenticia (TCA), la razón de eficiencia proteica (REP), el coeficiente de digestibilidad del alimento (CDA) y la proteína digestible aparente (PDA). Asimismo fue determinado el contenido de proteína y lípidos totales en músculo, hígado y pez entero; el contenido de glucógeno fue analizado en músculo e hígado. Se realizaron análisis hematológicos: conteo de glóbulos rojos (GR), hematocrito (Hk), concentración de hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), concentración de proteína (Pt) y glucosa (Glu). Los resultados obtenidos mostraron una supervivencia promedio superior al 98 % en todos los tratamientos sin mostrar diferencias significativas entre ellos. En los parámetros de crecimiento, los tratamientos D40, D44 y DC no presentaron diferencias significativas en el incremento en peso, TCE e IHS, no obstante, los peces alimentados con las dietas D29 y D34 mostraron un incremento significativo en el IHS. La composición de las dietas mostró efectos significativos sobre el contenido de proteína y lípidos en pez entero y músculo. Los peces alimentados con la dieta DC presentaron los mayores valores significativos comparados con el resto de los tratamientos en IDA, TCA, CDA y PDA. En hematología, los tratamientos D29, D34, D40 y D44, presentaron valores de GR significativamente mayores



al tratamiento DC. Los peces alimentados con la dieta D34 y D40 presentaron valores significativamente mayores de Hb respecto a los tratamientos D44 y DC. La Pt en los peces alimentados con D29 y D34 resultaron significativamente mayores que D40, D44 y DC. La Glu en los peces de los tratamientos D29, D34 y D40 resultó significativamente mayor que en D44 y DC. Los resultados sugieren que dietas elaboradas con 40 % de proteína digestible y suplementadas con 22 % de almidón y un probiótico, favorecen el crecimiento de juveniles de corvina blanca durante 8 semanas de cultivo.



CONTENIDO		Pág.
I	INTRODUCCIÓN	1
II	ANTECEDENTES	4
	II.1 Importancia de la proteína en las dietas.....	4
	II.2 Probióticos en la acuicultura.....	5
	II.3 Descripción de la especie de trabajo.....	9
	II.4 Hematología en cultivo de peces.....	10
III	OBJETIVO GENERAL	13
	III.1 Objetivos particulares.....	13
IV	HIPÓTESIS	14
V	MATERIALES Y MÉTODOS	15
	V.1 Obtención del probiótico.....	15
	V.2 Formulación y elaboración de las dietas.....	15
	V.2.1 Elaboración de harina de pescado.....	15
	V.2.2 Harina de pescado tratada con formaldehído.....	16
	V.2.3 Elaboración de dietas experimentales.....	16
	V.3 Organismos y sistema de cultivo.....	18
	V.4 Métodos de muestreo.....	18
	V.4.1 Extracción de enzimas digestivas.....	18
	V.4.2 Muestreo de organismos.....	19
	V.4.3 Muestreo de Heces.....	19
	V.4.4 Muestreo para análisis de glucógeno.....	19
	V.4.5 Muestreo de sangre.....	20
	V.5 Métodos analíticos.....	20
	V.5.1 Análisis de Digestibilidad proteica <i>in vitro</i> de dietas...	20



CONTENIDO (continuación)	Pág.
V.5.2 Parámetros de crecimiento.....	21
V.5.3 Análisis de digestibilidad <i>in vivo</i> con óxido de cromo..	22
V.5.4 Análisis químico proximal y contenido calórico.....	23
V.5.5 Análisis de glucógeno.....	23
V.5.6 Análisis de hematológicos.....	24
V.6 Análisis estadísticos.....	25
VI RESULTADOS.....	26
VI.1 Digestibilidad proteica relativa <i>in vitro</i> y contenido de proteína digestible en las dietas.....	26
VI.2 Crecimiento en peso y longitud.....	27
VI.3 Parámetros de crecimiento.....	27
VI.3.1 Supervivencia.....	27
VI.3.2 Tasa de crecimiento específico.....	30
VI.3.3 Índice hepatosomático.....	30
VI.3.4 Ingestión diaria de alimento y tasa de conversión alimenticia.....	32
VI.3.5 Razón de eficiencia proteica.....	32
VI.4 Coeficientes de digestibilidad aparente del alimento y de proteína.....	33
VI.5 Composición proximal de pez entero y tejidos.....	34
VI.5.1 Pez entero.....	34
VI.5.2 Músculo.....	35
VI.5.3 Hígado.....	36
VI.6 Características hematológicas de juveniles de corvina blanca.....	39
VI.6.1 Conteo de glóbulos rojos.....	39
VI.6.2 Hematocrito.....	39



CONTENIDO (continuación)	Pág.
VI.6.3 Hemoglobina.....	40
VI.6.4 Concentración de hemoglobina corpuscular media..	40
VI.6.5 Proteína en el plasma sanguíneo.....	40
VI.6.6 Glucosa en el plasma sanguíneo.....	42
VII DISCUSIONES.....	43
VII.1 Crecimiento de juveniles de corvina blanca.....	43
VII.2 Supervivencia.....	44
VII.3 Índice hepatosomático.....	45
VII.4 Ingestión diaria de alimento, tasa de conversión alimenticia y razón de eficiencia proteica.....	46
VII.5 Coeficiente de digestibilidad aparente del alimento y proteína digestible aparente.....	47
VII.6 Composición Proximal en Pez Entero y Tejidos.....	48
VII.6.1 Pez Entero.....	48
VII.6.2 Músculo.....	49
VII.6.3 Hígado.....	50
VII.7 Parámetros hematológicos.....	51
VII.7.1 Glóbulos rojos, hematocrito y hemoglobina.....	51
VII.7.2 Concentración de hemoglobina corpuscular media...	52
VII.7.3 Proteína en Plasma Sanguíneo.....	53
VII.7.4 Glucosa en Plasma Sanguíneo.....	54
VIII CONCLUSIONES.....	56
IX RECOMENDACIONES.....	57
X LITERATURA CITADA.....	58



LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Pág.
1	Digestibilidad proteica relativa de dietas elaboradas con diferentes niveles de proteína no tratada con formaldehído para juveniles de corvina blanca.....	26
2	Crecimiento en peso y longitud de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico.....	28
3	Índice hepatosomático de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico.....	31
4	Tasa de conversión alimenticia de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico.....	32
5	Coefficiente de digestibilidad del alimento en juveniles corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico.....	33
6	Contenido de glucógeno en hígado de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementadas con almidón y un probiótico.....	38
7	Proteína en el plasma de la sangre de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.....	41
8	Glucosa en el plasma de la sangre de juveniles de corvina blanca alimentados con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.....	42



INDICE DE TABLAS

TABLA		Pág.
I	Contenido de ingredientes empleados en las dietas experimentales (% del peso seco) y composición proximal (g en 100 g dieta) y razón de proteína/energía (P/E).....	17
II	Valores biológicos obtenidos a partir del experimento de juveniles de corvina blanca alimentados con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.....	28
III	Composición proximal de pez entero de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.....	34
IV	Composición proximal de músculo de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.....	36
V	Composición proximal de hígado de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.....	37
VI	Parámetros hematológicos de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementados con almidón y un probiótico.....	39



I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura representa actualmente el 47% de la producción mundial de pesca y sigue creciendo más rápidamente que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal y a mayor ritmo que la población (FAO, 2009). En México la acuicultura se ha desarrollado fundamentalmente bajo el enfoque de la piscicultura de siembra y repoblación (en especial en el área dulceacuícola) y en menor escala en el cultivo de especies de aguas marinas y salobres (Casas y Dettmer, 2007); actualmente el cultivo de especies marinas se ha limitado a la producción de camarón y ostión, principalmente; sin embargo los productores acuícolas han incrementado la demanda de mayores alternativas en la diversificación de los cultivos (Chávez-Sánchez *et al.*, 2008).

Pero el éxito en el cultivo de peces marinos depende en gran parte del desarrollo de dietas elaboradas a partir de ingredientes de bajo costo y con altos valores nutritivos (Anderson *et al.*, 1993; Martínez-Montaña, 2007). En el crecimiento y mantenimiento de los peces, la proteína es uno de los macronutrientes esenciales, además que determina el costo del alimento por las altas proporciones requeridas y es la fuente primaria de desechos nitrogenados en los sistemas de cultivo (Catacutan y Coloso, 1995; Davis *et al.*, 2005). En ese contexto, la harina de pescado es una de las fuentes proteicas comúnmente empleadas, pues además que posee un alto contenido de aminoácidos esenciales y una alta digestibilidad, es rica en ácidos grasos y sus contenidos de carbohidratos y factores antinutricionales son bajos (Sampaio-Oliveira y Cyrino, 2008). No obstante debido a su demanda en la industria acuícola, estimada en 60 % de la producción mundial actual de harina de pescado, además del incremento en los precios de harinas vegetales empleadas en acuicultura, se ha reportado una tendencia a incrementarse los precios de la harina de pescado (FAO, 2009).



Además, si bien es importante proporcionar los niveles de energía adecuados en la dieta para poder optimizar el uso de la proteína, y de esta manera verlo reflejado en la producción económica de peces (Cho *et al.*, 2005; Árnason *et al.*, 2009), se ha buscado incrementar el uso de fuentes energéticas económicas alternativas al aceite de pescado, ya que actualmente este ingrediente también muestra un incremento constante de su precio como resultado de su demanda para uso humano directo (FAO, 2009).

En la búsqueda de alternativas para la sustitución parcial o total de los productos derivados del pescado, empresas productoras de alimento para peces han optado por usar ingredientes vegetales para reducir costos, aún cuando estos ingredientes presentan una amplia variedad de sustancias antinutricionales como inhibidores de las proteasas o deficiencias en algunos nutrientes esenciales como lisina y metionina (Alarcón *et al.*, 1999; Francis *et al.*, 2001; Gaylord *et al.*, 2004; Sánchez-Lozano *et al.*, 2007). Además de que los peces carnívoros presentan requerimientos nutricionales significativamente diferentes a los organismos acuáticos herbívoros y terrestres (Murray, 2004), también se ha reportado que especies carnívoras como la lobina negra, trucha arcoíris y jurel tienen una limitada habilidad para utilizar los carbohidratos, donde niveles superiores al 20 % en las dietas han resultado en efectos negativos en el crecimiento y salud de los organismos (Shimeno *et al.*, 1979; Hilton y Atkinson, 1982; Wilson, 1994; Amoah *et al.*, 2008).

Por otra parte, se presenta la opción del uso de microorganismos vivos conocidos como *probióticos*, que adicionados al alimento proveen efectos benéficos a los animales hospederos al mejorar su balance intestinal (Fuller, 1992). Estudios al respecto muestran que la inclusión de bacterias probióticas en los alimentos incrementa el suministro de enzimas al sistema



digestivo del organismo y/o son complementarias a las que el organismo posee, así como un incremento de la capacidad de absorción de nutrientes en la membrana de borde de cepillo, lo que se refleja en mayor crecimiento en los organismos alimentados con dietas suplementadas con probióticos (Ochoa-Solano y Olmos-Soto, 2006; Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2009). Estudios en peces reportan efectos positivos en el crecimiento y supervivencia al incluir bacterias probióticas en sus alimentos (Ghosh *et al.*, 2008). Las principales bacterias empleadas como probióticos en estos estudios son del tipo ácido lácticas, entre las que destacan las bacterias de los géneros *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. y *Streptococcus* spp. (Keysami *et al.*, 2007), ya que son éstas las componentes principales de la microflora gastrointestinal de mamíferos y peces saludables (Ringo y Gatesoupe, 1998).

Existen algunas variables hematológicas y metabólicas que pueden proporcionar información adicional, útil a considerar en la evaluación objetiva sobre el efecto de dietas específicas en el crecimiento de peces (Glencross *et al.*, 2007). Algunas variables tienen el potencial de ser indicadores sensibles de la función metabólica, la utilización de nutrientes y la salud en los peces, como los cambios en los valores sanguíneos, los niveles de glucosa y proteínas en la sangre y la evaluación de los parámetros asociados con la respuesta inmune (Ingram, 1980; Sandnes *et al.*, 1988; Hardy, 1999; Kroghal *et al.*, 2000; Burel *et al.*, 2001; Montero *et al.*, 2003; Glencross *et al.*, 2007; Hansen *et al.*, 2007).

Debido a la importancia de brindar alternativas económicas en la nutrición de peces marinos, este trabajo se realizó con la finalidad de evaluar el crecimiento y la respuesta hematológica de juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis* alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible y suplementadas con almidón y un probiótico.



II. ANTECEDENTES

II.1 Importancia de la proteína en las dietas

A diferencia de los peces herbívoros y omnívoros, los peces carnívoros presentan una limitada capacidad en sus funciones digestivas para hidrolizar elevadas cantidades de carbohidratos de los alimentos (Krogdahl *et al.*, 2005), requiriendo dietas con altos niveles de proteína que son utilizadas tanto para la síntesis de tejido muscular como en complementar los requerimientos energéticos cuando las dietas presentan deficiencias en el aporte de energía derivado de los lípidos, pero además, si la dieta provee de energía superiores a los requeridos por los peces, estos disminuirán su tasa de alimentación lo que resulta en la reducción del crecimiento al no ingerir otros nutrientes necesarios para el óptimo crecimiento (Page y Andrews, 1973; Lovell, 1989; Cho *et al.*, 2005). Además de que el aporte de los aminoácidos esenciales deben obtenerse a partir de la proteína suministrada en el alimento (Hepher, 1993), de manera que el suministro adecuado de proteínas en la dieta de los animales es esencial para la promoción de su crecimiento, pues éstas serán las que le provean la cantidad y calidad de aminoácidos necesarios para la formación de nuevas proteínas en el organismo, así como para el reemplazo de las ya existentes (Wilson, 2002).

Sin embargo, proveer cantidades excesivas de proteínas a los organismos, no significa que éstos las puedan aprovechar únicamente para su crecimiento; ya que solo una fracción se destina a la formación de tejidos y el resto se utiliza como fuente energética. Además, parte de la proteína que no se asimila se ve reflejada en una baja eficiencia proteica del alimento e incrementa los desechos nitrogenados al medio ambiente. Por lo que el nivel óptimo de proteína en la dieta de los peces depende básicamente de su



calidad y de la disponibilidad de energía de fuentes no proteicas (Wilson, 2002; Sa *et al.*, 2006).

La medición de la digestibilidad de los nutrientes que componen una dieta provee evidencia de su valor nutricional, por lo que se ha recomendado a este indicador como un paso importante para evaluar la calidad de una dieta (Cho y Kaushik, 1990). Se ha reportado que la actividad digestiva de las enzimas y los valores de digestibilidad de nutrientes son afectados por la composición de la dieta, lípidos y carbohidratos principalmente (Fountoulaki *et al.*, 2005); lo anterior resulta de gran importancia cuando el objetivo es realizar formulaciones precisas que disminuyan el costo de producción de alimentos para peces carnívoros (Sampaio-Oliveira y Cyrino, 2008).

II.2 Probióticos en la acuicultura

Se han realizado diversas investigaciones sobre el uso de probióticos, en las que se ha encontrado que éstos pueden ser una alternativa ecológica favorable en la acuicultura para el control de bacterias patógenas en peces como el bacalao *Gadus morhua* (Gildberg *et al.*, 1997). También se han realizado estudios del efecto de bacterias probióticas aplicadas en dietas como promotores de crecimiento de organismos acuáticos. Wang (2007), empleó una mezcla de bacterias fotosintéticas (*Rhodobacter sphaeroides*) y *Bacillus sp* liofilizadas, adicionadas en tres diferentes concentraciones (2 g kg⁻¹, 10 g kg⁻¹, 20 g kg⁻¹) a las dietas para camarón (*Penaeus vannamei*), así como un tratamiento control sin adicionar bacterias. En sus resultados encontró que los camarones alimentados con las dietas suplementadas con bacterias mostraron un crecimiento significativamente más alto que los organismos del tratamiento control. La actividad enzimática de las proteasas en el intestino de los camarones fue significativamente más alta en los tratamientos donde se emplearon concentraciones de 10 y 20 g de bacterias por kg⁻¹ con respecto a la dieta control. Por otra parte, Wang *et al.* (2008)



estudiaron el efecto del probiótico *Enterococcus faecium* sobre el crecimiento y la actividad inmune de *Oreochromis niloticus*, mediante el uso de un alimento adicionado con 1×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC) ml^{-1} , reportando que la adición de bacterias produjo un incremento significativo del peso y una mejor respuesta inmune respecto a los organismos control.

Panigrahi *et al.* (2005) evaluaron diferentes formas de incorporación del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* en dietas para la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*. Las formas de incorporación del probiótico fueron: 1) inactivadas por calentamiento, 2) atomizadas en vivo y 3) deshidratadas al vacío. Los resultados obtenidos mostraron que las formas viables del probiótico (atomizadas y liofilizadas) indujeron una mejor actividad fagocítica y actividades complementarias, que las dietas con bacterias inactivadas. Pero además, el estudio mostró que la liofilización de los probióticos puede ser un modo eficiente de manejo en acuicultura.

El-Haroun *et al.* (2006) mediante el uso de un probiótico comercial (el cual contenía alicina, esporas de *Bacillus subtilis* y extracto de ginseng) en dietas para *O. niloticus* con 5 niveles de inclusión del probiótico (0, 0.5, 1.5, 2 y 2.5%) determinaron diferencias significativas en el crecimiento y utilización de nutrientes en los organismos alimentados con dietas con probióticos en relación al tratamiento control (0% de probiótico). Asimismo, El-Dakar *et al.* (2007) probaron el mismo probiótico comercial usado por El-Haroun *et al.* (2006), para evaluar la supervivencia, crecimiento, composición proximal y costo/beneficio del alimento en el cultivo del pez *Siganus rivulatus*, mediante dietas isoenergéticas e isoproteicas, con cinco niveles de probiótico (0, 1, 2, 3 y 4 g kg^{-1}). Los resultados obtenidos mostraron que los organismos alimentados con la dieta control presentaron baja utilización del alimento y menor crecimiento comparados con los tratamientos con probióticos. Asimismo no se presentaron diferencias significativas en el crecimiento de



los peces y la composición proximal de los peces debido al nivel de probiótico en la dieta. Finalmente observaron que la inclusión del probiótico en la dieta redujo los costos de alimento por unidad de crecimiento.

Ghosh *et al.* (2008) evaluaron diferentes concentraciones de *Bacillus subtilis* (5×10^8 , 5×10^7 , 5×10^6 y 5×10^5 cel g^{-1}) en dietas para los peces de ornato *Poecilia reticulata*, *P. sphenops*, *Xiphophorus helleri* y *X. maculatus* durante 90 días. Los resultados obtenidos mostraron que los organismos alimentados con dietas suplementadas con probióticos presentaron un incremento significativo de su peso y longitud, así como valores de conversión alimenticia significativamente más bajos en relación a los controles sin probióticos. Además de que el conteo de coliformes totales, aeromonas móviles y pseudomonas presuntivas resultaron significativamente menores en el intestino de los peces alimentados con probióticos en relación a los organismos control y demostraron que los probióticos confirieron resistencia a la patogenicidad de *Aeromonas hydrophila*. Finalmente concluyeron que concentraciones de 5×10^6 a 5×10^8 cel g^{-1} son adecuadas para obtener mejores resultados en crecimiento, así como en la composición del microambiente intestinal.

Respecto al uso de los probióticos en la digestibilidad de nutrientes, Schrijver y Ollevier (2000) evaluaron el efecto de la provisión de *Vibrio proteolyticus* sobre el proceso de la digestión proteica en juveniles de lenguado (*Scophthalmus maximus*). En sus resultados reportan que la dieta adicionada con probióticos presentó un incremento significativo de la digestibilidad aparente del nitrógeno en la parte proximal del intestino, que en nutrición animal es considerado como benéfico al incrementar la disponibilidad de proteína a ser absorbida, lo que indica que tal incremento se debió al aumento de la actividad proteolítica de las bacterias y no por las enzimas del pez.



Lara *et al.* (2003) evaluaron el efecto de la suplementación de dos tipos de probióticos (una mezcla de bacterias *Streptococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*), en dietas con dos niveles de proteína total (27 y 40 %) para cada tratamiento, así como un tratamiento control (sin probióticos), sobre el crecimiento de *O. niloticus*. Los resultados obtenidos mostraron un mejor crecimiento en los peces alimentados con las dietas adicionadas con probióticos respecto con las dietas control, aún en la dieta con el nivel más bajo de proteína total (27 %).

Sáenz de Rodríguez *et al.* (2009) evaluaron el efecto de dos cepas de bacterias del género *Shewanella* en el crecimiento, eficiencia alimenticia y actividad enzimática de *Solea senegalensis*. Se ensayaron dietas suplementadas con 1×10^9 ufc g^{-1} de cada probiótico, así como una dieta control sin probióticos. Los resultados mostraron que los peces alimentados con las dietas con ambos probióticos presentaron un crecimiento y utilización de nutrientes significativamente mayor que los controles, así como un incremento significativo de la actividad de la enzima fosfatasa alcalina. Estos investigadores sugieren que los probióticos pueden mejorar los procesos digestivos incrementando la digestibilidad del alimento y por ende la utilización de nutrientes del mismo.

Ochoa-Solano (2006) aisló cepas de *B. subtilis* y *B. megaterium* (ambas de origen marino y previamente evaluadas en la producción de proteasas, carbohidrasas y lipasas) y las adicionó a dietas formuladas con harina de soya como fuente de proteína para *Litopenaeus vannamei*, también empleó una dieta control (sin probióticos y con harina de soya) y una dieta comercial (con harina de pescado). En sus resultados encontró que la dieta en la que empleó la cepa de *B. subtilis* no mostró diferencias significativas en cuanto a crecimiento y al factor de conversión alimenticia (FCA) respecto a la dieta comercial, en el que además los organismos alimentados con la dieta



control presentaron menor crecimiento. Además observó que en los tratamientos con probióticos los camarones mostraron mejor calidad de agua comparados con los de la dieta control y la dieta comercial.

Por su parte, Trejo-Escamilla (2009) estudió el efecto de bacterias probióticas en el crecimiento de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*), para la cual se alimentaron juveniles con dietas con diferentes niveles de carbohidratos (10%, 14%, 18% y 22%) adicionadas con bacterias probióticas y una dieta control sin probióticos (10% de carbohidratos). En sus resultados reportó que los peces presentaron un buen crecimiento al ser alimentados con dietas formuladas con un contenido hasta 22% de carbohidratos provenientes del almidón, usando probióticos como promotores del uso de este nutriente. Concluyó que el uso de dietas con carbohidratos como fuente de energía y adicionadas con bacterias probióticas, pueden ayudar al hospedero a obtener un mejor crecimiento.

II.3 Descripción de la especie en estudio

La corvina blanca *Atractoscion nobilis* es una especie pelágica marina, que se encuentra distribuida sobre las costas del Pacífico desde la Bahía San Francisco CA. (EUA), hasta Bahía Magdalena, Baja California (México) (Vojkovich y Crooke, 2001). La corvina blanca es un pez carnívoro muy apreciado en la pesca comercial y deportiva en las aguas del Sur de California y Baja California, México. Debido a que en EUA su pesquería está considerada como amenazada se ha creado un programa de cultivo para su repoblamiento (California Department of Fish and Game, 2002). En México no existen registros donde indiquen sobreexplotación de corvina blanca, ya que en el 2003 solo se capturaron 7,553 kg en total en todo el territorio nacional (AEP, 2003). Al mismo tiempo, su alto valor comercial y los avances a escala piloto de su cultivo en jaulas, estanques y canales, la ha convertido en una especie con potencial para la acuicultura (Kent *et al.*, 2001).



Dada la importancia de esta especie, se han realizado diversos estudios sobre su nutrición, en los que se han evaluado los efectos de la variación de la relación proteína: energía y de fuentes proteicas sobre índices corporales, composición bioquímica y eficiencia energética en postlarvas y juveniles (López *et al.*, 2006; Durazo *et al.*, 2009; López *et al.*, 2009). Agúndez-Amador (2007) reporta que niveles de 50-55 % de proteína total en la dieta son adecuados para el crecimiento de juveniles de corvina blanca; mientras que López *et al.* (2006) establecieron como niveles de lípidos adecuados en la dieta valores de 15.5 % a 18 %.

En la búsqueda de opciones económicas para el reemplazo de la harina de pescado como fuente de proteínas en dietas para corvina blanca, Briggs-Fajardo (2006) evaluó el efecto de la sustitución parcial de harina de pescado por harina de soya como fuente de proteínas. En sus resultados reporta que es posible reemplazar en un 10% la proteína total con harina de soya sin llegar a afectar los niveles de crecimiento, digestibilidad y eficiencia proteica.

Sin embargo, pese a los diversos estudios que se han realizado en esta especie, aun falta mucha información sobre alternativas económicamente viables en la nutrición de esta especie y en aspectos tan importantes como las relaciones del estado nutricional de los organismos con su condición de salud.

II.4 Hematología en cultivo de peces

La hematología es la disciplina que estudia las células sanguíneas en su parte morfológica, bioquímica y funcional, así como también los órganos hematopoyéticos, las enfermedades relacionadas con ellos y cualquier fenómeno o patología que relacione a las células y/o sus órganos productores (Valenzuela *et al.*, 2003). El tejido sanguíneo representa un



volumen que oscila entre 2-4 % del peso corporal en los peces, se compone de una parte líquida (plasma) y otra sólida (células); otra característica de este tejido es que su formación ocurre en diferentes órganos, asegurando la hematopoyesis del individuo a lo largo de su vida y en el caso de los peces, los órganos encargados de la hematopoyesis son el riñón, el timo y el bazo (Jaramillo-Schadebrodt, 2005).

Por lo anterior, los análisis hematológicos y de química sanguínea son considerados como indicadores rápidos de cualquier perturbación fisiológica que pueda afectar la salud de la población piscícola por factores como las condiciones ambientales, la edad, estado nutricional, el fotoperiodo, entre otros (Bastardo y Díaz, 2004; De Pedro *et al.*, 2004). Es por ello que actualmente la evaluación hematológica se utiliza cada vez más como herramienta útil en la determinación del estado de salud y el equilibrio metabólico en los peces, tanto de vida silvestre como en cultivos intensivos (De Pedro *et al.*, 2004).

En ese contexto se ha reportado que valores hematológicos como la disminución del contenido de hemoglobina y de hematocrito son indicadores de toxicidad de compuestos como los polifenoles (inhibidores de las enzimas deshidrogenas) presentes en la harina de algodón, ingrediente utilizado como fuente de proteína en la elaboración de dietas para peces como la tilapia híbrida, tilapia nilótica y el bagre de canal (Herman, 1970; Mbahinzireki *et al.*, 2001; Yue y Zhou, 2008). Mientras que Subhadra *et al.* (2006) han demostrado que la respuesta inmune no-específica de peces carnívoros de agua dulce como la lobina negra *Micropterus salmoides* es afectada tanto por la calidad de la fuente de proteína como la de lípidos en sus dietas.

También se ha reportado que en peces carnívoros, incrementos en los niveles de glucosa en la sangre parecen estar relacionados con la



disfuncionalidad metabólica del hígado debido a un exceso de carbohidratos digestible en las dietas; pero existe además la intolerancia a la glucosa, termino clínico en los mamíferos que refiere a la incapacidad de un organismo para hacer uso de una constante y alta carga de glucosa, lo cual resulta en una hiperglicemia persistente y en muchos casos en un crecimiento reducido (Hilton *et al.*, 1987; Wilson, 1994; Moon, 2001; Hemre *et al.*, 2002). Por otra parte, se ha reportado la importancia de diferenciar entre tolerancia y los niveles óptimos de carbohidratos en las dietas para peces, definiendo como tolerancia a la cantidad de carbohidratos en los que tanto el crecimiento como la mortalidad no sean afectados; mientras que los niveles óptimos se refieren a la completa oxidación de la glucosa derivada de los carbohidratos para la producción de energía y por lo tanto, en el ahorro de proteína para este proceso (Hilton *et al.*, 1987; Hemre *et al.*, 2002).

Aunque la hematología ha adquirido importancia en especies dulceacuícolas comerciales, en peces aún se tiene poco conocimiento de ésta (Subhadra *et al.*, 2006); además de que existe poca información hematológica sobre especies marinas (Valenzuela *et al.*, 1999).



III OBJETIVO GENERAL

Evaluar el crecimiento y respuesta hematológica de juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementadas con almidón y un probiótico.

III.1 Objetivos Particulares

1. Determinar el crecimiento, supervivencia y la eficiencia de conversión alimenticia en juveniles de corvina blanca alimentados con las diferentes dietas experimentales.
2. Establecer la composición química proximal y contenido de energía en dietas formuladas, heces, organismo completo, músculo e hígado, al inicio y final del experimento de alimentación.
3. Medir el contenido de glucógeno en hígado y músculo de los peces alimentados con las diferentes dietas experimentales.
4. Determinar el conteo de glóbulos rojos (GR), hematocrito (Hk), concentración de hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), concentración de proteína (Pt) y glucosa (Glu) de la sangre en peces alimentados con las diferentes dietas experimentales.
5. Determinar la digestibilidad proteica y de las dietas experimentales, así como su relación con los parámetros de crecimiento y hematológicos.



IV HIPÓTESIS

El aprovechamiento de los carbohidratos como energía biodisponible promoverá un uso más eficiente de la proteína disponible de la dieta sobre la promoción del crecimiento y salud de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas suplementadas con bacterias probióticas.



V MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*), proporcionados por el Instituto Hubbs-Sea World Research, de San Diego, California. Los bioensayos se realizaron en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC.

V.1 Obtención del probiótico

Se utilizó el probiótico (cepa bacteriana del género *Bacillus*) proporcionado por el Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Marina del CICESE. Las bacterias probióticas fueron aisladas y seleccionadas de acuerdo a Ochoa-Solano y Olmos-Soto (2006).

V.2 Formulación y elaboración de las dietas

Se trabajó con 4 dietas experimentales isoproteicas (50 % de proteína total) e isoenergéticas (22.6 kJ g⁻¹ de dieta), con diferentes niveles de proteína digestible mediante el uso de proteína de harina de pescado sin tratamiento con formaldehído (PNT) y tratada (D44, D40, D34 y D29 con 50, 45, 40 y 35 % de PNT, respectivamente) y suplementadas con un probiótico. Se elaboró una dieta control con 55 % de PNT y sin probiótico (DC). En la tabla I se presentan la formulación de las dietas y su composición proximal, energía total y la razón proteína/energía.

V.2.1 Elaboración de harina de pescado

Para las dietas experimentales se utilizó harina de pescado preparada con una mezcla de harinas de filete y de pescado entero de la Cabrilla *Paralabrax maculatofasciatus*.

Las harinas fueron elaboradas cocinando los filetes y el pescado entero (por separado) en baño maría por 40 min. Posteriormente se eliminó el



exceso de líquido de la masa y se adicionó con un aspersor 0.01 % de hidroxibutilanisol disuelto en alcohol etílico al 70 %. La masa fue secada a 60 °C durante 24 h en un horno de convección. Se procedió a moler y tamizar la harina a través de una malla de 230 μm , para almacenarla a -20 °C en bolsas de plástico selladas herméticamente.

V.2.2 Harina de pescado tratada con formaldehido

Con la finalidad de reducir la biodisponibilidad proteica de la harina de pescado y poder usarla como ingrediente de relleno en la dietas, se llevó a cabo el siguiente procedimiento.

Parte de la harina de pescado previamente elaborada, fue tratada con formaldehido de acuerdo a la metodología de Antoniewicz *et al.* (1992) y modificada por Cruz-Hernández (2007). El proceso consistió en agregar 75 ml de formaldehido al 6.4 % por cada 100 g de harina de pescado, se mezcló y se dejó reposar por 24 h en bolsas de plástico selladas herméticamente. Luego se secó a 85 °C durante 16 h y se almacenó de la misma forma que la harina de pescado no tratada.

V.2.3 Elaboración de dietas experimentales

En la preparación de las dietas experimentales, los ingredientes fueron homogenizados, excepto el aceite de pescado, el almidón y la gelatina, en una mezcladora Kitchen Aid. El probiótico se adicionó a la mezcla con ingredientes sólidos con un rociador, se homogenizó y posteriormente se agregó el aceite de pescado. Luego fueron incorporados el almidón y la gelatina, previa hidratación en agua caliente, para posteriormente peletizar la mezcla a través de una boquilla con salidas de 3 mm. Los pellets formados se secaron a 60 °C por 24 h en una estufa de convección. Las dietas se almacenaron en bolsas de plástico selladas herméticamente a -20 °C hasta su uso.



Tabla I: Contenido de ingredientes empleados en las dietas experimentales (% del peso seco) y composición proximal (g en 100 g dieta) y razón de proteína/energía (P/E).

Ingredientes	DC	D44	D40	D34	D29
Harina de pescado ¹	55.4	49.2	43.0	37.0	30.8
Harina pescado tratada ¹	0.00	0.00	6.20	12.20	18.40
Harina de krill ²	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
Celulosa ³	6.10	2.40	2.40	2.40	2.40
Almidón ⁴	12.00	22.00	22.00	22.00	22.00
Aceite de pescado ⁵	8.20	8.00	8.00	8.00	8.00
Gelatina ⁶	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Mezcla minerales ⁷	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Mezcla vitaminas ⁸	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Cloruro de Colina	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
α -tocoferol ⁹	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Acido ascórbico	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Probiótico	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
Composición proximal					
Humedad	4.9	4.5	4.3	4.9	4.3
Proteína total	55.9	51.0	51.5	50.8	50.5
Proteína digestible	49.2	44.2	40.0	33.8	29.0
Lípidos totales	17.4	17.5	17.0	16.9	17.4
Cenizas	5.7	5.5	5.5	5.5	5.5
E.L.N. + fibra total*	16.1	21.5	21.7	21.9	22.3
Energía total (kJ g ⁻¹)	22.9	22.6	22.6	22.4	22.6
Razón P:E (mg kJ ⁻¹)	24.5	22.5	22.8	22.6	22.3

1 Elaborada a partir de cabrilla obtenida de la pesquería local (81% de proteína, 13% de lípidos).

2 Skretting, Vancouver, British Columbia, Canadá

3 Alpha cell, INC, b=Biomedicals, Alemania

4 IRIS, EUA

5 Aceite de Menhaden, Sigma, EUA

6 Nabisco, EUA

7 Mezcla para corvina blanca (g/kg de mezcla de minerales): KH₂PO₄ (250); KI (0.2); Ca (H₂PO₄)₂(200); MgSO₄, H₂O (100); CuSO₄ 5H₂O (1); CoCl₂ · H₂O (0.04); Al (OH)₃ (0.1), MnSO₄ (3); Fe₂ (SO₄)₃ (6); ZnSO₄ (5); Na₂Se (0.05).

8 Mezcla de vitaminas para corvina blanca obtenida de Skretting, Vancouver, British Columbia, Canadá.

9 INC Biomedicals, INC, Alemania.

*Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) + fibra total = 100 - (% proteína total + % lípidos totales + % cenizas + % humedad).



V.3 Organismos y sistema de cultivo

Se trabajó con juveniles de corvina blanca con un peso y longitud inicial de 11.27 ± 0.27 g y 9.32 ± 0.13 cm respectivamente. Los peces fueron distribuidos en 15 tanques de 65 L por triplicado a una densidad de 22 organismos por tanque. La distribución de las réplicas en el sistema se realizó de forma aleatoria simple.

El bioensayo se realizó en un sistema semi-abierto con una tasa de recambio de agua de 1.5 L min^{-1} dentro de los tanques. Se utilizó agua de mar filtrada a través de un filtro de arena, seguido por filtros de cartuchos de 20 y $5 \mu\text{m}$, finalmente con exposición a una lámpara de luz UV. Durante la realización del experimento se monitoreó la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y oxígeno (mg L^{-1}), manteniéndose un intervalo de $19 \pm 1.0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y $6 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente; mientras que el fotoperiodo fue de 12 h luz: 12 h oscuridad. La limpieza se realizó en cada una de las réplicas dos veces al día (después de la primer y última alimentación) por medio de sifoneo. Los peces fueron aclimatados durante 7 días con las dietas experimentales, y durante el transcurso del bioensayo se les alimentó a saciedad 3 veces al día (8:00, 13:00 y 18:00), registrando el consumo del alimento consumido por día.

V.4 Métodos de muestreo

V.4.1 Extracción de enzimas digestivas

La extracción de las enzimas digestivas se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Martínez-Montaño (2007) que consistió en disectar los organismos y extraer los sistemas digestivos de juveniles de corvina blanca a una temperatura de $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ con una cama de hielo. Tras disectar la región de los ciegos pilóricos del resto del sistema digestivo, estos fueron homogenizados en una proporción de 1:3 con agua deionizada a $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Una vez homogenizados, se centrifugaron a $16,000 \text{ g}$ a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min. El



sobrenadante obtenido se colectó en alícuotas de 200 μ l y se almacenaron a -70 °C para ser utilizado en los análisis de actividad enzimática y de digestibilidad *in vitro* de las dietas experimentales.

V.4.2 Muestreo de organismos

Al inicio del bioensayo se muestrearon 12 peces del lote total y al final del experimento se muestrearon 6 peces por réplica para realizar el análisis químico proximal y 4 peces para la determinación del índice hepatosomático. Para facilitar la manipulación de los animales durante los muestreos, estos fueron anestesiados con 150 mg L⁻¹ de aceite de clavo diluido en etanol a razón de 1:9, respectivamente (Agüero-Grande, 2008). Se realizaron 3 biometrías corporales de peso (\pm 0.01 g) y longitud (\pm 0.1 cm) los días 1, 28 y 60 del experimento.

V.4.3 Muestreo de heces

Posterior al bioensayo de crecimiento, los peces fueron aclimatados durante una semana a dietas adicionadas con 1 % de óxido de cromo (Cr₂O₃) como marcador, después de esta semana se inició el muestreo de heces para análisis de digestibilidad. Las colectas de heces se realizaron por sifoneo directo cada 30 min después de la segunda alimentación y durante las siguientes 2 h. Las heces de cada réplica fueron drenadas y colocadas en frascos de plástico y congeladas a -20 °C hasta su uso en la determinación del coeficiente de digestibilidad aparente del alimento (CDA) y de la proteína digestible aparente (PDA).

V.4.4 Muestreo para análisis de glucógeno

Se muestrearon 3 peces por réplica 18 h después de la última alimentación. Los organismos fueron sacrificados con un corte rápido de la cabeza, se les extrajo el hígado y el músculo, que fueron congelados en hielo seco y almacenados a -70 °C hasta su análisis (Moreira *et al.*, 2008).



V.4.5 Muestreo de sangre

Para los análisis hematológicos se extrajo sangre a través de una punción cardíaca a 8 peces de cada réplica. La sangre fue colectada en jeringas con 0.1 ml con solución anticoagulante EDTA al 10 % (3 mg ml⁻¹ de sangre) para la determinación de GR, Hk y Hb (García *et al.*, 2007). Posteriormente, se obtuvo el plasma sanguíneo mediante centrifugación a 12,000 rpm x 5 min a 4 °C (Atencio-García *et al.*, 2007), el que fue almacenado a 4 °C hasta su uso (5 días) para determinación de la concentración de Pt y Glu.

V.5 Métodos analíticos

V.5.1 Análisis de digestibilidad proteica *in vitro* de las dietas

La digestibilidad proteica de las dietas experimentales fue evaluada empleando la técnica electroquímica del pH-STAT para el análisis de digestibilidad proteica *in vitro* siguiendo la metodología de Córdova-Murueta y García-Carreño (2002), con las recomendaciones de Martínez-Montaña (2007) usando las enzimas digestivas obtenidas de acuerdo a lo descrito en el apartado V.4.1.

El proceso de la reacción de hidrólisis fue cuantificado en un titulador automático pH STAT 718 Stat Titrino™ (Metrohm Ion Analysis, Suiza), en el que la digestibilidad proteica *in vitro* de cada una de las dietas se evaluó como el grado de hidrólisis (GH) obtenida a pH de 8.0, con 25 °C de temperatura durante 60 min.



Posteriormente se calculó la digestibilidad proteica relativa (DPR) de cada una de las dietas, considerando a la caseína como proteína patrón por presentar un alto valor de digestibilidad de acuerdo a la metodología de Lazo *et al.* (1998):

$$\text{DPR (\%)} = (\Delta\text{GH}_{\text{Ingrediente ó Dieta}} / \Delta\text{GH}_{\text{Caseína}}) * 100$$

Los valores obtenidos de DPR fueron considerados como el contenido de proteína digestible de las dietas experimentales (Tabla II).

V.5.2 Parámetros de crecimiento

Los parámetros calculados fueron los siguientes:

Supervivencia.

$$\text{Supervivencia (\%)} = \frac{\text{Número de peces al final}}{\text{Número de peces al inicio}} * 100$$

Tasa de Crecimiento Específico (TCE).

$$\text{TCE} = (\text{Pf} - \text{Pi} / \text{N} / \text{T}) * 100$$

Pf= peso final (g), Pi= peso inicial (g), N= número de peces y T= tiempo total en días.

Índice hepatosomático (IHS):

$$\text{IHS} = \frac{\text{Peso del hígado (g)} * 100}{\text{Peso del pez (g)}}$$

Ingestión diaria de alimento (IDA).

$$\text{IDA} = \frac{\text{Alimento seco consumido (g)} * 100}{[(\text{Pf} + \text{Pi (g)}) / 2] * \text{T}}$$

Tasa de Conversión Alimenticia (TCA).



$$\text{TCA} = \frac{\text{Alimento seco consumido (g)}}{\text{Peso ganado (g)}}$$

Razón de Eficiencia Proteica (REP).

La REP fue calculada considerando la PNT consumida. La PNT fue estimada por diferencia entre los contenidos de proteína total y de proteína tratada en las dietas (Durazo *et al.* 2009)

$$\text{REP} = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{PNT (g)}}$$

V.5.3 Análisis de digestibilidad *in vivo* con óxido de cromo

La determinación del CDA y del PDA se realizó analizando las muestras de dietas y heces adicionadas con Cr_2O_3 utilizando el método modificado de Furukawa y Tsukahara (1966). Para lo cual las muestras fueron primero digeridas en 5 ml de ácido nítrico a 120 °C por 120 min y luego en 3 ml de ácido perclórico a 203 °C durante 1 h; posteriormente la muestra fue llevada a 25 ml de agua destilada, para ser finalmente leída la absorbancia a 350 nm en un espectrofotómetro.

El CDA y PDA fueron calculados a partir del consumo de las dietas *in vivo* de acuerdo a Hardy y Barows (2002):

$$\text{CDA} = 100 - [100 * (\text{DCr} / \text{HCr})]$$

DCr= % de Cr_2O_3 en la dieta, HCr= % de Cr_2O_3 en las heces.

La PDA de dietas *in vivo*:

$$\text{PDA} = (1000 - 1000 * (\text{H}_{\text{PNT}} * \text{DCr} / \text{D}_{\text{PNT}} * \text{HCr})) * (\text{D}_{\text{PNT}} / 100)$$

H_{PNT} = % de PNT en las heces, D_{PNT} = % de PNT en la dieta.



La PDA fue calculada asumiendo que la HPT no fue digerida y por lo tanto excretada en heces. Por lo que la proteína total no tratada con formaldehído (PNT) fue estimada por diferencia con el contenido de proteína total obtenido en dietas y heces (Durazo *et al.*, 2009).

V.5.4 Análisis químico proximal y contenido calórico

Cada uno de las dietas formuladas, organismo entero, los tejidos (músculo, hígado) y heces fueron utilizados para análisis químico proximal.

El contenido de humedad fue determinado secando las muestras a 105 °C y hasta peso constante; la proteína total (N x 6.25) se determinó con el método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1995); las cenizas se obtuvieron calcinando las muestras a 500 °C durante 8 h (AOAC, 1995). Los lípidos totales se determinaron por extracción con cloroformo-metanol (2:1 v/v) según el método de Folch *et al.* (1957).

El contenido calórico total de las muestras secas de las dietas, porción muscular, pez entero, hígado y heces, se calculó a partir de su composición proximal y con base a los valores calóricos de referencia para proteínas (23.6 kJ g⁻¹), lípidos (39.5 kJ g⁻¹) y carbohidratos (17.2 kJ g⁻¹) (Bureau *et al.*, 2002).

V.5.5 Análisis de glucógeno

El contenido de glucógeno en hígado fue determinado con la metodología de Plummer (1987), que consiste en la transformación del glucógeno del hígado en glucosa, la cual fue cuantificada usando un kit para determinación de glucosa de *Pointe Scientific, INC.*

El contenido de glucógeno se calculó de acuerdo a Plummer (1987):

$$\% \text{ Glucógeno} = \frac{\text{Glucosa (mg)} \times 0.5 \times 0.9}{\text{Peso muestra (g)}} \times 0.001 \times 100$$



dl= decilitros de solución de muestra

0.9= factor de conversión de glucosa en glucógeno.

0.5= contenido de glucosa en dilución de muestra.

0.001= transformación de la concentración de glucosa (mg) en g.

V.5.6 Análisis hematológicos

El GR (cel ml^{-1}) se hizo mediante la dilución de 20 μl de sangre en solución de *Dacie's* para peces a razón de 1:50 respectivamente (De Pedro *et al.*, 2004), posteriormente se tomaron fotografías digitalizadas a través del programa Paxit de la cámara Neubauer a través de observaciones microscópicas de 100X. Los glóbulos rojos fueron contados a partir de las fotografías digitalizadas de las celdillas de la cámara Neubauer.

El Hk (%) fue calculado por el método de microhematocrito a través de la centrifugación de la sangre a 10,000 rpm por 10 min y el lector para tubos capilares de hematocrito *Spiracrit Lancer*.

La CHCM fue calculada a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{CHCM (\%)} = (\text{Hb} * 100) / \text{Hk}$$

Los análisis de Hb (g dl^{-1}), Pt (g dl^{-1}) y Glu (mg dl^{-1}) fueron determinados con kits de *Pointe Scientific, INC* (725004-236, 722101-057 y 805801-060, respectivamente).



V.6 Análisis Estadísticos

El diseño experimental fue aleatorio simple. Los datos fueron analizados a través un ANOVA de una vía y determinadas las diferencias entre tratamientos por el método de Holm-Sidak con niveles de significancia de $P < 0.05$. Los datos que no cumplieron con la homogeneidad de varianzas fueron analizados a través del método de Tukey. Los resultados fueron reportados como media \pm desviación estándar. Todos aquellos valores expresados como porcentajes o g kg^{-1} , fueron transformados con la función arco seno, y evaluada la distribución normal y homogeneidad de varianzas. Las diferencias entre grupos de datos que no presentaron homogeneidad de varianzas fueron analizadas a través de la prueba de Dunn. Los datos que no cumplieron con la distribución de normalidad fueron analizados por la vía no paramétrica de Kruskal-Wallis y reportados con el valor de la mediana.



VI RESULTADOS

VI.1 Digestibilidad proteica relativa *in vitro* y contenido de proteína digestible en las dietas

En el presente trabajo, los valores de DPR *in vitro* de las dietas mostraron una disminución significativa ($r^2 = 0.997$, $P < 0.0001$) con respecto al contenido de PNT (Figura 1). El contenido de proteína digestible en las dietas fue de 29.0 %, 33.8 %, 40.0 %, 44.2 % y 49.2 % para D29, D34, D40, D44 y DC, respectivamente.

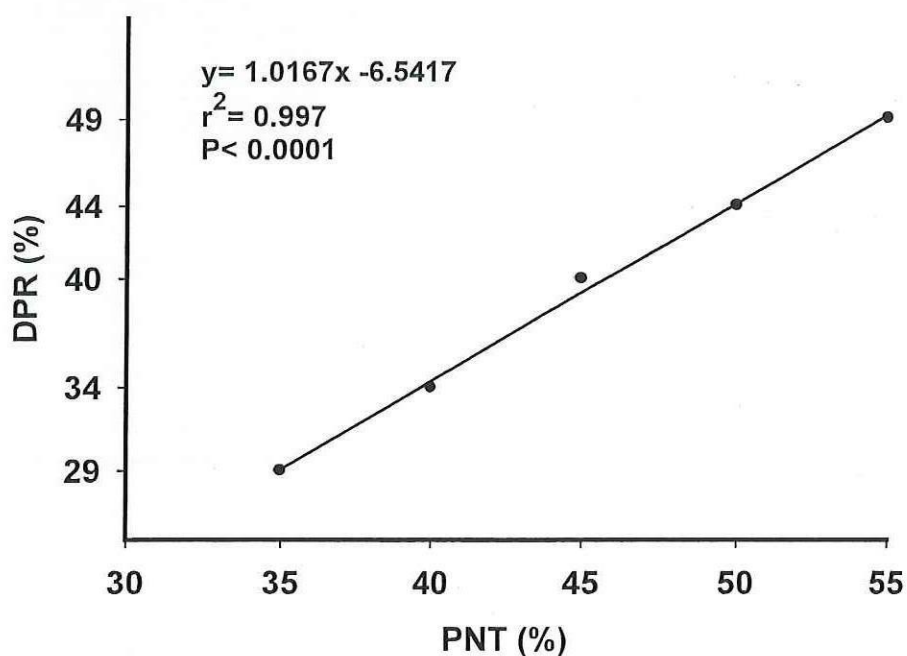


Figura 1: Digestibilidad proteica relativa (DPR) de dietas elaboradas con diferentes contenido de proteína no tratada con formaldehído (PNT) para juveniles de corvina blanca. Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P < 0.05$.



VI.2 Crecimiento en peso y longitud

Al final del bioensayo, la composición de las dietas produjo efectos significativos ($F= 20.3$, $P<0.001$) en el incremento en peso de juveniles de corvina blanca. Los peces alimentados con las dietas D29 y D34 (23 ± 7 y 37 ± 6 g, respectivamente) mostraron menores valores de ganancia en peso ($P<0.05$) respecto al tratamiento DC (41 ± 7 g). Los tratamientos D40, D44 (38 ± 6 y 38 ± 7 g, respectivamente) y DC, no presentaron diferencias significativas en la ganancia en peso entre ellos (Tabla II, Figura 2a).

El incremento de longitud final de los peces presentó diferencias significativas entre tratamientos ($H= 47.5$, $P<0.001$) respecto a la composición de la dieta. Los peces alimentados con D44 (5.5 cm) mostraron una significativa ganancia de longitud respecto a los tratamientos D29 y D34 (4.6 y 5.3 cm, respectivamente). Los tratamientos D40, D44 y DC (5.4, 5.5 y 5.3 cm, respectivamente) no mostraron diferencias significativas. El tratamiento D29 presentó la menor ganancia de longitud ($P<0.05$) en relación al resto de los tratamientos (Tabla II, Figura 2b).

VI.3 Parámetros de crecimiento

VI.3.1 Supervivencia

Al final del bioensayo, la supervivencia de los peces no mostró diferencias significativas ($H= 8.4$, $P=0.078$) entre tratamientos (Tabla II). Los peces alimentados con las dietas DC y D29 presentaron 100 % de supervivencia.



Tabla II. Valores biológicos obtenidos a partir del experimento de juveniles de corvina blanca alimentados con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.

	DC	D44	D40	D34	D29
Peso inicial (g)	11.6 ±1.3	11.3 ±1.3	11.3 ±1.3	11.3 ±1.3	11.4 ±1.4
Peso final (g)	53 ±8 ^a	49 ±8 ^{ab}	49 ±7 ^{ab}	48 ±7 ^b	41 ±8 ^c
Peso ganado (g)	41 ±7 ^a	38 ±7 ^{ab}	38 ±6 ^{ab}	37 ±6 ^b	30 ±7 ^c
Longitud inicial (cm)	9.4 ±0.4	9.3 ±0.4	9.3 ±0.4	9.3 ±0.5	9.4 ±0.5
Longitud final (cm)*	14.8 ^a	14.9 ^a	14.6 ^a	14.6 ^a	14.0 ^b
Longitud ganada (cm)*	5.3 ^{ab}	5.5 ^a	5.4 ^{ab}	5.3 ^b	4.6 ^c
Supervivencia (%)*	100.0	98.5	98.5	98.5	100.0
TCE (% pez día⁻¹)	3.6 ±0.7 ^a	3.3 ±0.6 ^{ab}	3.3 ±0.6 ^{ab}	3.2 ±0.6 ^b	2.6 ±0.6 ^c
IHS (%)*	1.8 ^b	1.9 ^b	2.3 ^{ab}	3.5 ^a	4.4 ^a
IDA (g org⁻¹día⁻¹)	0.58 ±0.01 ^e	0.62 ±0.03 ^d	0.70 ±0.01 ^c	0.76 ±0.02 ^b	0.84 ±0.03 ^a
TCA	0.58 ±0.01 ^e	0.65 ±0.01 ^d	0.73 ±0.03 ^c	0.83 ±0.02 ^b	0.95 ±0.03 ^a
REP	3.16 ±0.06	3.10 ±0.06	3.07 ±0.11	3.06 ±0.08	3.05 ±0.09
CDA (%)	73 ±1.8 ^a	68 ±1.1 ^b	57 ±4.2 ^c	51 ±2.4 ^d	40 ±0.7 ^e
PDA (%)	99 ±0.3 ^a	98 ±0.1 ^b	96 ±0.5 ^c	94 ±0.2 ^d	92 ±0.2 ^e

Tasa de crecimiento específico (TCE), índice hepatosomático (IHS), ingestión diaria de alimento (IDA), tasa de conversión alimenticia (TCA), razón de eficiencia proteica (REP), coeficiente de digestibilidad del alimento (CDA) y la proteína digestible aparente (PDA). Los valores presentados son la media ±desviación estándar (n= 60 para peso y longitud, n= 9 para IHS, n= 3 para supervivencia, IDA, TCA, REP, CDA y PDA). Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos cuando P<0.05. * Análisis estadístico de Kruskal-Wallis, valor de mediana.

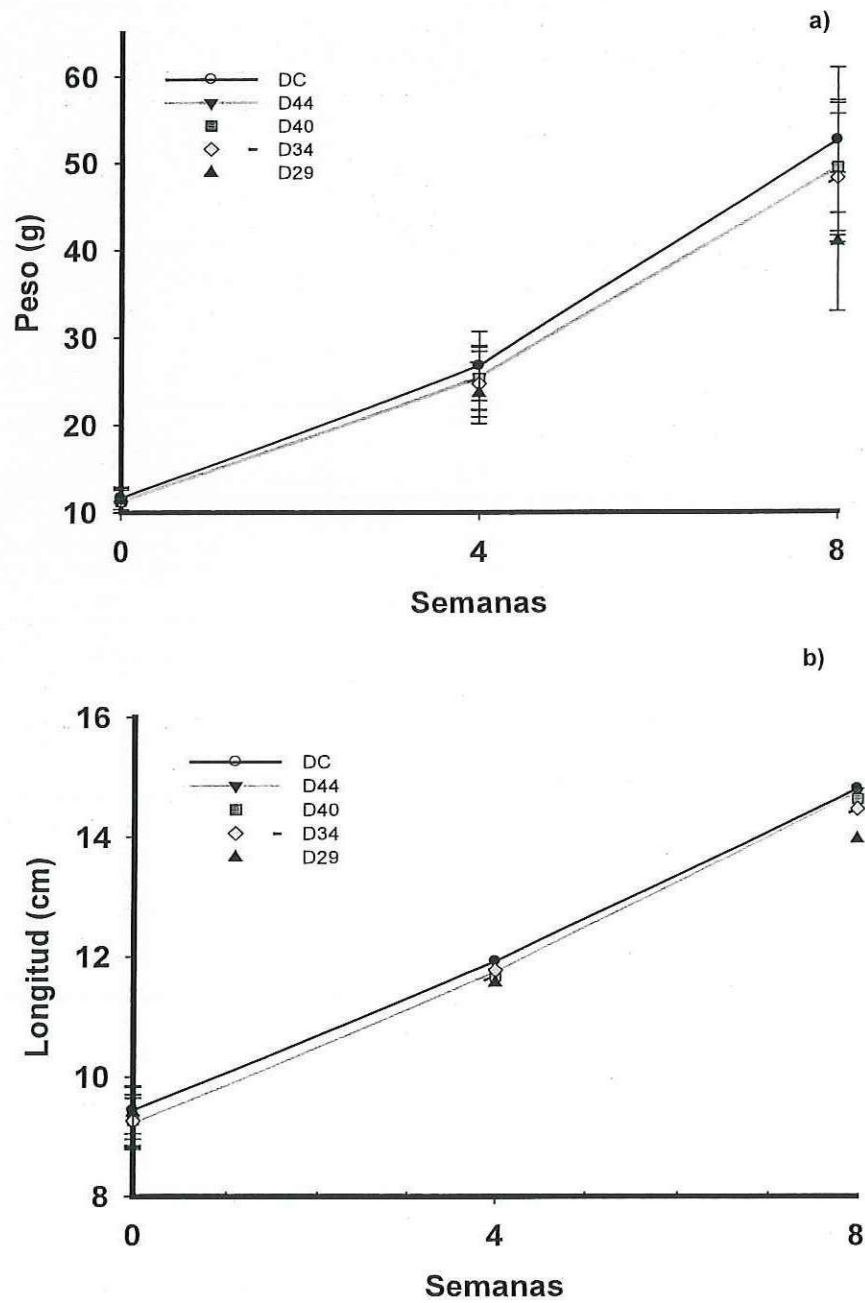


Figura 2: Crecimiento en peso (a) y longitud (b) de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digerible suplementada con almidón y un probiótico. Las barras indican la desviación estándar de la media (n= 60).



VI.3.2 Tasa de crecimiento específico

La TCE de los peces mostró diferencias significativas ($F= 27.7$, $P<0.001$) respecto a la composición de las dietas. La TCE de los organismos alimentados con D29 (2.6 ± 0.6 % pez día⁻¹) mostraron diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Tabla II). Los peces que comieron la dieta D34 mostraron una TCE (3.2 ± 0.6 %pez día⁻¹) significativamente menor a la TCE observada en DC (3.6 ± 0.7 %pez día⁻¹). No obstante, D40, D44 y DC (3.3 ± 0.6 , 3.3 ± 0.6 y 3.6 ± 0.7 %pez día⁻¹, respectivamente) no mostraron diferencias significativas entre ellos.

VI.3.3 Índice hepatosomático

Los valores de IHS mostraron diferencias significativas ($H= 31.6$, $P<0.001$) entre tratamientos debido a la composición de las dietas. El IHS de los peces de los tratamientos D29 y D34 (4.4, 3.5 %, respectivamente) resultó significativamente mayor ($P<0.05$) al IHS de los tratamientos D44 y DC (con valores de 1.9 y 1.8 %, respectivamente). Los peces alimentados con la dieta D40 mostraron un IHS (2.3 %) que no mostró diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Tabla II). Asimismo, se observó un incremento significativo ($r^2 = 0.926$, $P<0.009$) del IHS respecto a la disminución de proteína digestible en las dietas (Figura 3).

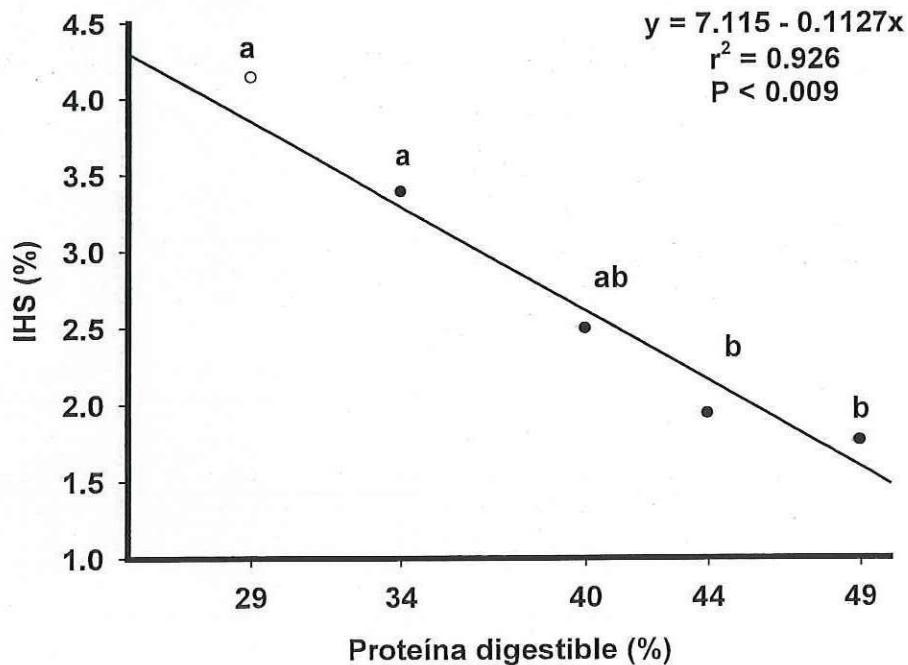


Figura 3: Índice hepatosomático (IHS) de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico. Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P < 0.05$ ($n = 9$).

VI.3.4 Ingestión diaria de alimento y tasa de conversión alimenticia

Los valores de IDA de juveniles de corvina blanca presentaron diferencias significativas ($F = 80.2$, $P < 0.001$) debido a la composición de las dietas. Los peces alimentados con la dieta D29 obtuvieron los mayores valores de consumo de alimento con $0.84 \pm 0.03 \text{ g org}^{-1}\text{día}^{-1}$, mientras que el tratamiento DC obtuvo el menor valor de IDA con $0.57 \pm 0.01 \text{ g org}^{-1}\text{día}^{-1}$ (Tabla II).

La TCA mostró diferencias significativas ($F = 152$, $P < 0.001$) entre tratamientos (Tabla II). La dieta D29 obtuvo el mayor valor de TCA (0.95



± 0.03) respecto al resto de los tratamientos, mientras que DC (0.58 ± 0.01) mostró la menor TCA con respecto al resto de los tratamientos. La TCA presentó además una disminución significativa ($r^2 = 0.990$, $P < 0.001$) con el incremento de proteína digestible en las dietas (Figura 4).

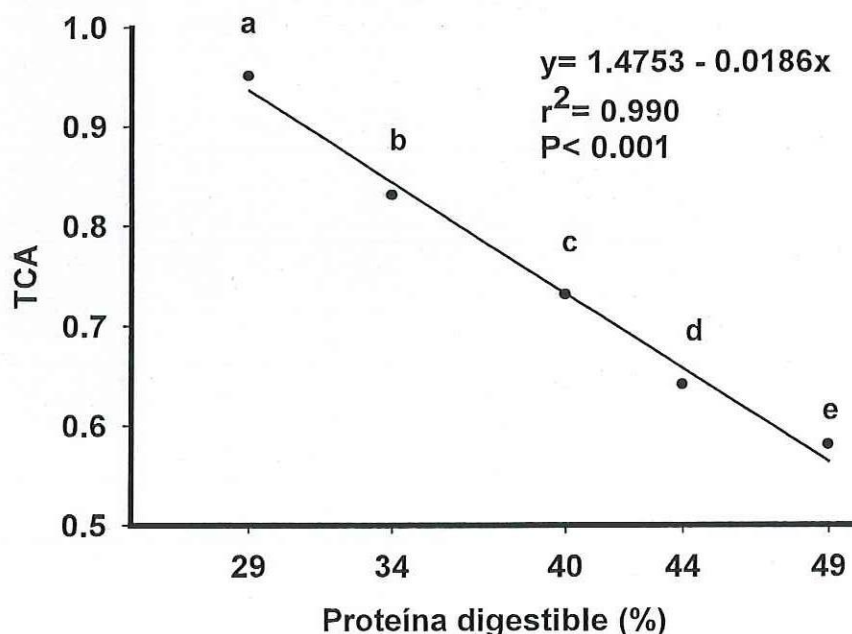


Figura 4: Tasa de conversión alimenticia (TCA) de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico. Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P < 0.05$ ($n = 3$).

VI.3.5 Razón de eficiencia proteica

La razón de eficiencia proteica (REP) de los juveniles de corvina blanca no presentó diferencias significativas ($F = 1.93$, $P = 0.182$) entre tratamientos (Tabla II). Los valores de REP observados para las dietas D29, D34, D40, D44 y DC fueron de 3.05 ± 0.09 , 3.06 ± 0.08 , 3.07 ± 0.11 , 3.10 ± 0.06 y 3.16 ± 0.06 , respectivamente.



VI.4 Coeficientes de digestibilidad aparente del alimento y de proteína

El CDA de las dietas presentó diferencias significativas ($F= 97.2$, $P<0.001$) entre tratamientos (Tabla II). La dieta D29 obtuvo el menor valor de CDA ($40 \pm 0.7 \%$), mientras que DC obtuvo el mayor valor ($73 \pm 1.8 \%$). También se mostró un incremento significativo ($r^2= 0.98$, $P<0.001$) de los valores de CDA con el aumento de proteína digestible en las dietas (Figura 5).

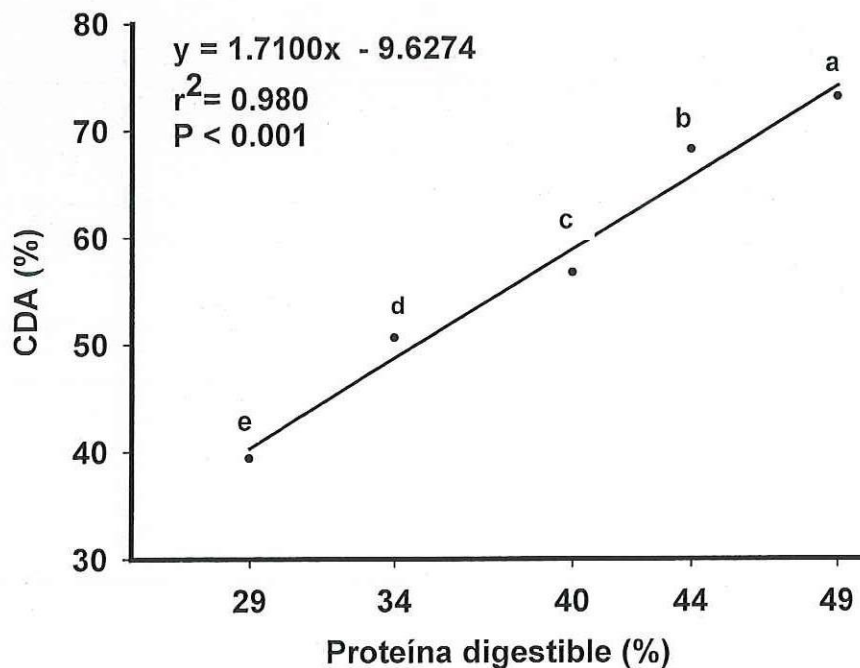


Figura 5: Coeficiente de digestibilidad del alimento (CDA) en juveniles corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementada con almidón y un probiótico. Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P<0.05$ ($n= 3$).



La PDA presentó diferencias significativas ($F= 280$, $P<0.001$) entre tratamientos. La dieta DC obtuvo el mayor valor de PDA con $99 \pm 0.3 \%$, mientras que D29 obtuvo el menor valor con $92 \pm 0.3 \%$ (Tabla II).

VI.5 Composición proximal de pez entero y tejidos

VI.5.1 Pez entero

El contenido de proteína en pez entero mostró diferencias significativas ($F= 24.9$, $P<0.001$) entre tratamientos debido a la composición de las dietas. El tratamiento D44 ($20 \pm 1.3 \%$, peso húmedo) resultó mayor ($P<0.05$) al tratamiento D29 ($17.0 \pm 0.9 \%$). Además se observó una tendencia a la disminución del contenido de proteína en pez entero con la ingesta de menor contenido de proteína digestible en la dieta (Tabla III).

Tabla III. Composición proximal de pez entero (% , peso húmedo), de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico. Los valores de proteína, lípidos, cenizas y ELN representan el porcentaje en peso húmedo.

PEZ ENTERO	DC	D44	D40	D34	D29
Humedad	72.3 ± 1.5	71.7 ± 1.5	73.0 ± 2.0	72.7 ± 0.6	74.0 ± 1.0
Proteína	20.1 ± 1.1^{ab}	20.7 ± 1.3^a	18.6 ± 1.3^{ab}	18.1 ± 0.7^{ab}	17.0 ± 0.9^b
Lípidos	3.5 ± 0.2^b	3.5 ± 0.2^b	3.7 ± 0.2^b	4.4 ± 0.2^a	4.1 ± 0.3^{ab}
Energía (kJ g^{-1})	6.3 ± 0.4	6.4 ± 0.3	6.1 ± 0.4	6.3 ± 0.2	6.0 ± 0.3

Los valores presentados son la media \pm desviación estándar ($n=3$). Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un $P<0.05$.

El contenido de lípidos totales en pez entero mostró diferencias significativas ($F= 9.3$, $P<0.002$) entre tratamientos. Los peces del tratamiento D34 presentaron una mayor ($P<0.05$) concentración de lípidos ($4.4 \pm 0.2 \%$,



peso húmedo) respecto a los tratamientos D40, D44 y DC (3.7 ± 0.2 , 3.7 ± 0.2 y 3.5 ± 0.2 %, respectivamente).

La energía bruta calculada en pez entero no presentó diferencias significativas ($F= 1.3$, $P= 0.334$) entre tratamientos (Tabla III).

VI.5.2 Músculo

El contenido de humedad en músculo de corvina blanca presentó diferencias significativas ($F= 21.6$, $P<0.001$) con respecto a la composición de la dieta, y mostró una tendencia a disminuir en los tratamientos donde se alimentó con menor inclusión de proteína digestible en sus dietas (Tabla IV). El tejido muscular de los peces alimentados con D40 y DC (80.9 ± 0.4 y 80.4 ± 0.5 %, respectivamente) presentó el mayor contenido de humedad ($P<0.05$) respecto a los tratamientos D29 y D34 (78.0 ± 0.1 , 78.7 ± 0.3 %, respectivamente). Los tratamientos D40, D44 y DC no mostraron diferencias significativas entre ellos.

El contenido de proteína del músculo de juveniles de corvina blanca mostró una respuesta inversa significativa ($F= 18.0$, $P<0.001$) respecto al contenido de humedad en éste tejido debido a la composición de las dietas. Los peces alimentados con la dieta D29 mostraron un contenido de proteína en el músculo (219.9 ± 1 g kg^{-1} peso húmedo) mayor ($P<0.05$) al resto de los tratamientos (Tabla IV); por su parte D34 (18.8 ± 0.5 %) presentó mayores valores ($P<0.05$) que DC (17.7 ± 0.2 %). La composición de proteína en el músculo de los tratamientos D34, D40 y D44 no mostró diferencias significativas entre ellos. Asimismo, los resultados entre los tratamientos D40 (17.9 ± 0.3 %), D44 (18.3 ± 0.5 %) y DC no presentaron diferencias significativas.



Tabla IV. Composición proximal (% peso húmedo) de músculo de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.

	DC	D44	D40	D34	D29
MÚSCULO					
Humedad	80.4 ±0.5 ^a	79.7 ±0.4 ^{ab}	80.9 ±0.4 ^a	78.7 ±0.3 ^b	78.0 ±0.4 ^{bc}
Proteína	17.7 ±0.2 ^c	18.3 ±0.5 ^{bc}	17.9 ±0.3 ^{bc}	18.8 ±0.5 ^b	19.9 ±0.1 ^a
Lípidos	1.2 ±0.01 ^{bc}	0.9 ±0.03 ^c	1.2 ±0.13 ^{ab}	1.1 ±0.04 ^{bc}	1.4 ±0.05 ^a
Glucógeno	0.2 ±0.06	0.2 ±0.05	0.2 ±0.07	0.2 ±0.07	0.2 ±0.05

Los valores presentados son la media \pm desviación estándar (n=3 para humedad, proteína y lípidos; n=6 para glucógeno). Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un $P < 0.05$.

Las dietas produjeron efectos significativos ($F = 11.8$, $P < 0.001$) en el contenido de lípidos en músculo de los juveniles de corvina blanca (Tabla IV).

El tratamiento D29 (1.4 \pm 0.05 %) resultó mayor ($P < 0.05$) a D34, D44 y DC (1.2 \pm 0.04, 0.9 \pm 0.03 y 1.2 \pm 0.01 %, respectivamente).

El contenido de glucógeno en el músculo no mostró diferencias significativas ($F = 2.32$, $P = 0.06$) entre tratamientos (Tabla IV).

VI.5.3 Hígado

El contenido de humedad en el hígado no mostró diferencias significativas ($F = 1.87$, $P = 0.19$) entre tratamientos (Tabla V).

De igual manera, la composición de las dietas no mostró efectos significativos ($F = 2.16$, $P = 0.15$) en el contenido de proteína en el hígado de los peces (Tabla V).



Asimismo, la concentración de lípidos en el hígado de los peces alimentados con las diferentes dietas experimentales no mostraron diferencias significativas ($F= 1.01$, $P= 0.45$) entre tratamientos (Tabla V).

Tabla V. Composición proximal (% peso húmedo) de hígado de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico.

	DC	D44	D40	D34	D29
HÍGADO					
Humedad	49.8 ±0.4	50.3 ±0.4	48.1 ±7.1	54.2 ±3.6	53.2 ±2.0
Proteína	13.4 ±1.8	12.9 ±1.5	13.0 ±1.7	12.0 ±0.2	11.1 ±0.5
Lípidos	19.9 ±0.5	18.8 ±1.7	19.6 ±4.5	16.6 ±2.5	17.1 ±1.8
Glucógeno	11.7 ±1.4 ^b	12.6 ±1.6 ^{ab}	13.4 ±1.3 ^{ab}	13.2 ±2.2 ^{ab}	14.6 ±0.8 ^a

Los valores presentados son la media ±desviación estándar ($n=3$ para humedad, proteína y lípidos; $n=6$ para glucógeno). Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un $P<0.05$.

En el contenido de glucógeno en el hígado mostró diferencias significativas ($F= 4.94$, $P= 0.02$) entre tratamientos. Los peces alimentados con la dieta D29 (14.6 ±0.8 %) resultaron mayores ($P<0.05$) respecto al tratamiento DC (11.7 ±2.4 %) (Tabla V). Además, se observó una relación altamente significativa ($r^2= 0.96$, $P< 0.001$) de la disminución del contenido de glucógeno en el hígado de los peces con el incremento de los niveles de proteína digestible en las dietas (Figura 6).

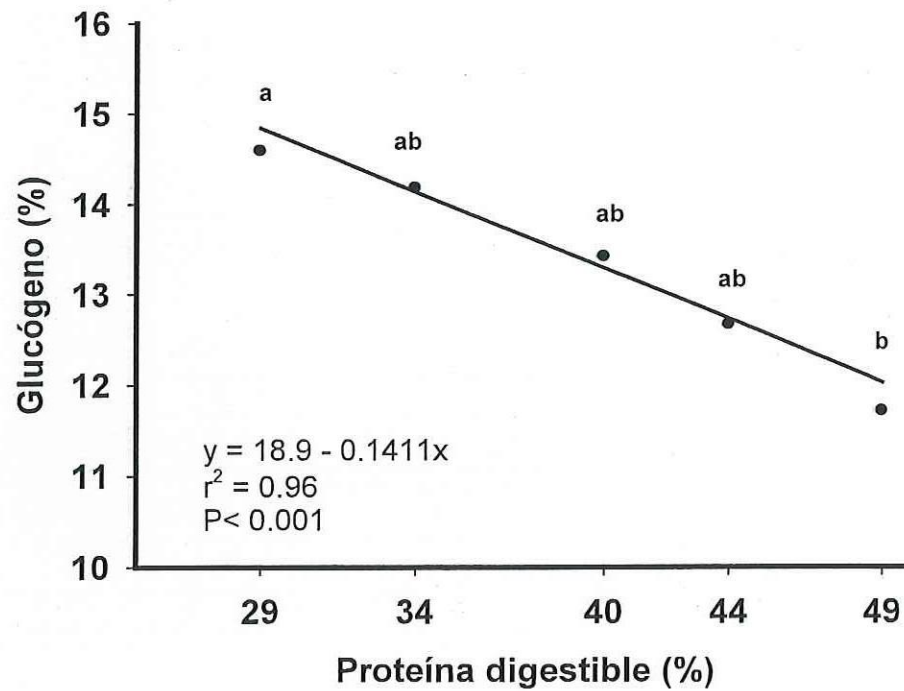


Figura 6: Contenido de glucógeno en hígado de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferente contenido de proteína digestible suplementadas con almidón y un probiótico. Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P < 0.05$ ($n = 6$).



VI.6 Características hematológicas de juveniles de corvina blanca

VI.6.1 Conteo de glóbulos rojos

Los valores de conteo de glóbulos rojos (GR) presentaron diferencias significativas ($F= 14.7$, $P< 0.001$) entre tratamientos (Tabla VI). Donde los peces alimentados con las dietas suplementadas con 22 % de almidón y un probiótico (D29 a D44), mostraron mayores valores ($P<0.001$) en la cantidad de GR de la sangre (1.8 a $2.1 \pm 0.3 \times 10^6$ cel ml^{-1}) respecto a los peces alimentados con la DC ($1.45 \pm 0.3 \times 10^6$ cel ml^{-1}) que contenía 12 % de almidón y sin probióticos. Por otra parte los valores de GR obtenidos en el tratamiento D29 resultó menor ($P<0.05$) a D44.

Tabla VI. Parámetros hematológicos de juveniles de corvina blanca alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible suplementados con almidón y un probiótico.

	DC	D44	D40	D34	D29
GR	1.5 ± 0.3^c	2.1 ± 0.3^a	2.0 ± 0.4^{ab}	2.0 ± 0.3^{ab}	1.8 ± 0.3^{bc}
Hk*	33.1	26.7	34.3	31.3	26.6
Hb	12.5 ± 1.8^c	11.9 ± 2.5^c	15.0 ± 2.0^a	14.3 ± 2.3^{ab}	12.7 ± 1.7^{bc}
CHCM	41.0 ± 8.3	45.5 ± 11.3	48.0 ± 11.5	53.0 ± 13.3	45.7 ± 7.3
Pt	1.7 ± 0.1^c	1.6 ± 0.1^c	1.6 ± 0.2^c	3.5 ± 0.2^a	2.5 ± 0.3^b
Glu	80 ± 37^b	114 ± 34^b	164 ± 38^a	168 ± 43^a	163 ± 36^a

Número de glóbulos rojos (GR en cel ml^{-1}), hematocrito (Hk, en %), hemoglobina (Hb, en g dL^{-1}), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM, en %), proteína (Pt, en g dL^{-1}) y glucosa (Glu en mg dL^{-1}). Valores en el mismo renglón con diferentes superíndices indican diferencias significativas con un $P<0.05$. $n=20$ por tratamiento. * Análisis estadístico de Kruskal-Wallis, valor de mediana.

VI.6.2 Hematocrito

Los valores de hematocrito (Hk) obtenidos entre tratamientos, mostraron intervalos de 26-34 % sin presentar diferencias significativas ($H= 9.6$, $P= 0.05$) debido a la composición de las dietas (Tabla VI).



VI.6.3 Hemoglobina

La concentración de hemoglobina (Hb) en la sangre de juveniles de corvina blanca presentó diferencias significativas ($F= 8.2$, $P< 0.001$) entre tratamientos (Tabla VI), donde los peces alimentados con las dietas D34 y D40 (14.3 ± 2.3 y 15.0 ± 2.0 g dL⁻¹, respectivamente) mostraron los mayores valores de Hb ($P<0.05$) respecto a los tratamientos D44 y DC (11.9 ± 2.5 y 12.5 ± 1.8 g dL⁻¹, respectivamente). El tratamiento D40 también presentó un incremento significativo de Hb respecto al tratamiento D29 (12.7 ± 1.7 g dL⁻¹).

VI.6.4 Concentración de hemoglobina corpuscular media

La CHCM mostró un intervalo de 41 a 53 % entre tratamientos (Tabla VI) sin presentar diferencias significativas ($F= 0.66$, $P= 0.621$).

VI.6.5 Proteína en el plasma sanguíneo

La composición de las dietas produjo efectos significativos ($F= 302$, $P< 0.001$) en la concentración de proteína (Pt) en el plasma sanguíneo de los peces (Tabla VI). La Pt de los peces alimentados con las dietas D34 (3.5 ± 0.2 g dL⁻¹) resultó mayor ($P<0.05$) al resto de los tratamientos. Mientras que la dieta D29 (2.5 ± 0.3 g dL⁻¹) resultó mayor ($P<0.05$) que los tratamientos D40, D44 y DC (1.6 a 1.7 g dL⁻¹) (Figura7).

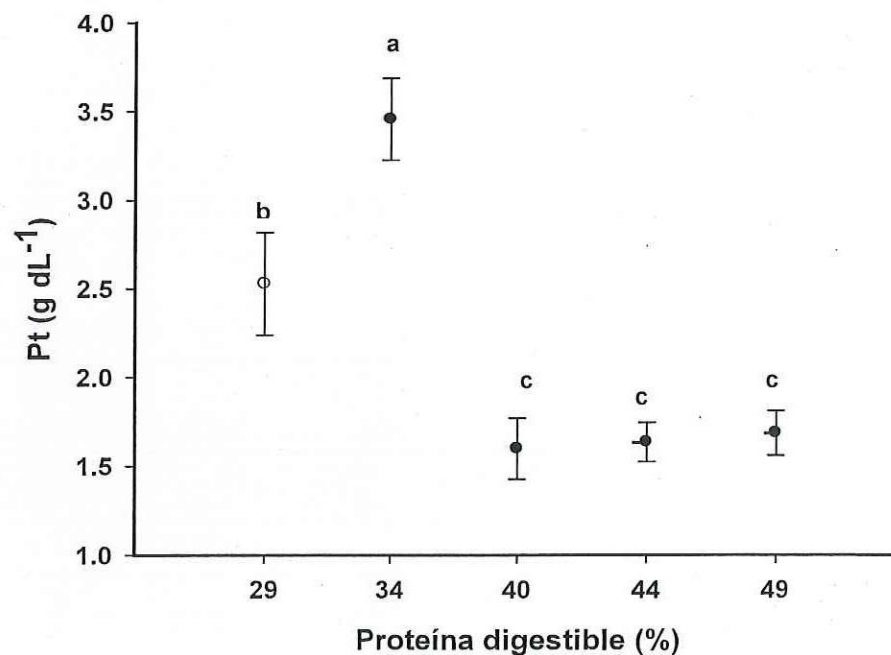


Figura 7: Proteína (Pt) en el plasma de la sangre de juveniles de corvina blanca alimentadas con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico. Las barras indican la desviación estándar de la media (n= 20). Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P < 0.05$.



VI.6.6 Glucosa en el plasma sanguíneo

La concentración de glucosa (Glu) en el plasma sanguíneo de los peces presentó diferencias significativas ($F= 16.7$, $P< 0.001$) entre tratamientos debido a la composición de la dieta (Tabla VI). La Glu de los tratamientos D29, D34 y D40 (con un promedio de 165 ± 39 mg dL⁻¹) resultó mayor ($P<0.05$) que en los tratamientos D44 y DC (114 ± 34 y 80 ± 37 mg dL⁻¹, respectivamente). Los tratamientos D44 y DC no presentaron diferencias significativas entre ellos (Figura 8).

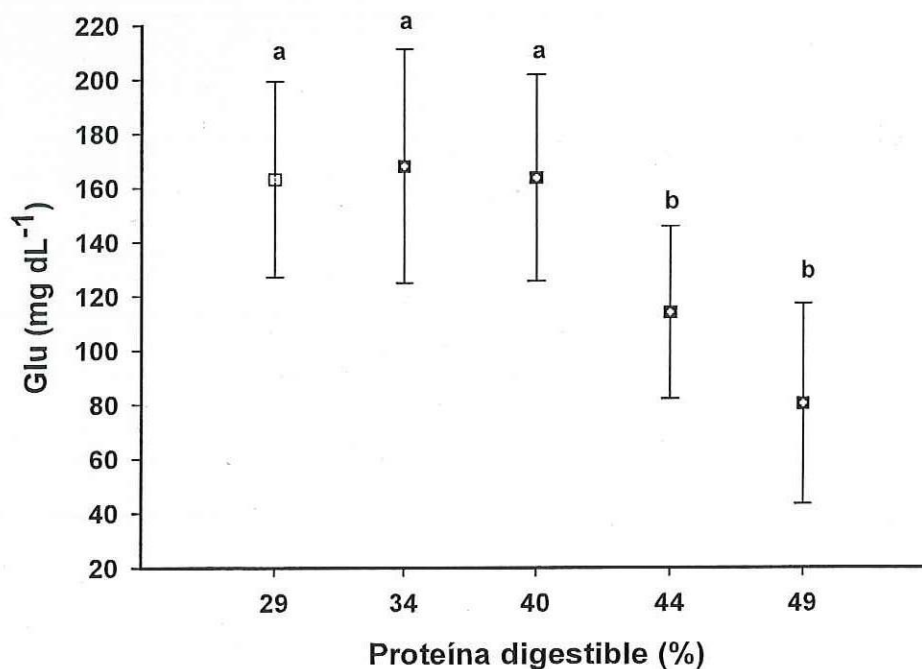


Figura 8: Glucosa (Glu) en el plasma de la sangre de juveniles de corvina blanca alimentados con diferentes niveles de proteína digestible en dietas suplementadas con almidón y un probiótico. Las barras indican la desviación estándar de la media ($n= 20$). Diferentes superíndices sobre las barras indican diferencias significativas con un $P<0.05$.



VII DISCUSIONES

VII.1 Crecimiento de juveniles de corvina blanca

Los resultados encontrados en la presente investigación mostraron que juveniles de corvina blanca alimentados con la dieta D40 (40 % de proteína digestible) presentaron una TCE y ganancia en peso y longitud significativamente igual a la obtenida por los peces alimentados con las dietas D44 y DC (44 y 49 % de proteína digestible, respectivamente), lo cual sugiere que la dieta D40 proporcionó los nutrientes biodisponibles requeridos para un adecuado crecimiento. Estos resultados difieren de lo reportado por Durazo *et al.* (2009) para la misma especie. Ya que estos autores obtuvieron las TCE más altas en los peces alimentados con niveles de 49 a 54 % de proteína digestible en las dietas.

Peres y Oliva-Teles (2002) reportan que la inclusión de diferentes niveles de carbohidratos en dietas de hasta 25 % para la corvina europea (*Dicentrarchus labrax*) no muestran un efecto en el crecimiento en juveniles en relación a la dieta sin este nutriente. Además, Enes *et al.* (2006) concluyeron que los niveles de proteína son el principal factor que regula el catabolismo enzimático de los aminoácidos y de gluconeogénesis en peces carnívoros como la corvina europea. Por su parte Moreira *et al.* (2008) mencionan que el incremento de los niveles de carbohidratos en la dieta no mejora la tasa de crecimiento o la utilización proteica y por lo tanto tampoco permite el uso económico de la proteína. Sin embargo, los resultados encontrados en nuestro estudio difieren de lo descrito por Peres y Oliva-Teles (2002), Enes *et al.* (2006) y Moreira *et al.* (2008); ya que en la presente investigación las dietas experimentales adicionadas con probiótico también fueron suplementadas con 22 % de almidón como fuente de carbohidratos, donde los peces alimentados con 40% de proteína digestible mostraron resultados comparables a las dietas con mayor contenido de este nutrientes.



De acuerdo a Hemre *et al.* (2002) la incorporación de niveles apropiados de carbohidratos en las dietas para peces carnívoros puede mejorar el crecimiento de los organismos al mantener las necesidades metabólicas reduciendo la actividad de glucogénesis. No obstante, el crecimiento obtenido en los peces alimentados con la dieta D29 fue significativamente menor al resto de los tratamientos experimentales considerando que ésta dieta aportó solo 29 % de proteína digestible. Lo anterior posiblemente esté relacionado a que los peces tienen poca habilidad para conservar algunos aminoácidos cuando las dietas contienen bajos niveles de proteína; además es conocido que en los peces carnívoros cierta cantidad de proteína seguirá siendo utilizada con fines de obtención de energía (Cowey y Walton, 1995; Sa *et al.*, 2006).

VII.2 Supervivencia

En la presente investigación al final del bioensayo no se observaron diferencias significativas en la supervivencia de los peces alimentados con las diferentes dietas de estudio, ya que en todos los tratamientos se obtuvieron valores superiores al 98 %. Además, durante el cultivo y manejo de los organismos en este estudio, no fue necesario realizar medidas profilácticas adicionales, a diferencia de otros trabajos con corvina blanca, tal como lo reportan Torres-Cobian (2005) y Cruz-Hernández (2007) quienes mencionaron la necesidad de aplicar baños en peróxido de hidrógeno para prevenir problemas asociados con el manejo de los mismos, y aun así sus organismos presentaron problemas de lesiones en piel y aletas. La supervivencia y salud aparente de piel y aletas de la corvina blanca del presente trabajo pueden estar relacionados probablemente a los efectos benéficos del *Bacillus* sp sobre la producción de sustancias antimicrobianas y enzimáticas que inhiben el crecimiento de patógenos en peces como reporta Shiozaki *et al.* (2006) quienes trabajaron con una cepa de *Bacillus* sp aislada a partir del botete japonés (*Takifugu rubripes*) y encontraron una alta



inhibición del crecimiento de los patógenos *Edwardsiella tarda* y *Vibrio anguillarum*, causantes de enfermedades en diferentes especies de peces marinos como las anguillas, jureles y lenguados.

VII.3 Índice hepatosomático

En el presente trabajo, el IHS mostró una disminución significativa con el incremento de proteína digestible en las dietas, en el que el tratamiento DC presentó el menor valor promedio (1.8 %) mientras que D29 mostró el mayor valor con 4.1 % de IHS. En trabajos anteriores con corvina blanca, valores de IHS de 1.8 a 2.8 han sido asociados con hígados sanos (Torres-Cobian, 2005; Briggs-Fajardo, 2006; Cruz-Hernández, 2007), dado que el tamaño del hígado está asociado tanto a la cantidad como al balance de nutrientes en la dieta, siendo el IHS un indicador de la condición de salud de los organismos (Storebakken y Austreng, 1987), y debido a que en el hígado se centraliza el tratamiento y proceso metabólico de los nutrientes desde donde se proporcionan a los demás órganos y tejidos a través del torrente sanguíneo (Vigliano *et al.*, 2002). Los resultados de Torres-Cobian (2005), Briggs-Fajardo (2006) y Cruz-Hernández (2007) coinciden con lo observado en la corvina europea (*D. labrax*), en la cual el incremento del IHS fue relacionado al aumento del contenido de glucógeno en el hígado como resultado de elevadas cantidades de carbohidratos digestibles en las dietas, así como a un incremento de la depositación de lípidos en el hígado (Dias *et al.*, 1998; Peres *et al.*, 1999; Peres y Oliva-Teles, 2002; Moreira *et al.*, 2008). No obstante, Marcouli *et al.* (2006) han asociado el incremento del IHS a la deficiencia de algunos aminoácidos esenciales, como la lisina, en dietas con bajos contenidos de proteína, tal como reportaron para *D. labrax* y *Sparus aurata*. Sin embargo, en la presente investigación el incremento del IHS en corvina blanca pudo ser el resultado de la combinación de ambos factores, especialmente en los tratamientos D29 y D34, la cuales, además de bajos niveles de proteína digestible estuvieron adicionadas con alto contenido de



almidón, sugiriendo que el probiótico promovió el aprovechamiento de los azúcares provenientes del almidón, los cuales fueron acumulados en el hígado en forma de glucógeno.

VII.4 Ingestión diaria de alimento, tasa de conversión alimenticia y razón de eficiencia proteica

La IDA de la presente investigación mostró diferencias significativas entre tratamientos, donde se observó una tendencia significativa entre el incremento de los valores de IDA y la disminución de proteína digestible. La tendencia observada en nuestra investigación coincide con lo reportado por Durazo *et al.* (2009) quienes evaluaron el efecto de diferentes niveles de proteína digestible en dietas para corvina blanca. Se ha reportado que los peces ingieren mayores cantidades de alimento para mantener sus requerimientos metabólicos de proteína y energía (Bureau *et al.*, 200; Wang *et al.*, 2006; Durazo *et al.*, 2009).

La composición de la dieta presentó efectos significativos sobre la TCA de la presente investigación; además se observó una significativa disminución del TCA con respecto a la proteína digestible. Se tiene reportado que la disminución de los valores TCA está relacionada con la menor ingesta de alimento y el mejor crecimiento (De Silva y Anderson, 1995; Goddard, 1996; Bascinar *et al.*, 2007). Sin embargo en la presente investigación, la adición de HPT produjo una disminución del uso eficiente de las dietas en las que fue adicionada, ya que la adición de cantidades mayores al 20 % de ingredientes de relleno parece afectar de forma negativa la eficiencia alimenticia al diluir los nutrientes de la dieta (Dias *et al.*, 1998; Durazo *et al.*, 2009).

Referente a la utilización óptima de proteína, en la presente investigación los valores de REP (3.0 - 3.1) no presentaron diferencias



significativas entre tratamientos. Durazo *et al.* (2009) reportaron un comportamiento de REP similar al presentado en la reciente investigación, al alimentar a juveniles de corvina blanca con diferentes niveles de proteína digestible. Hardy y Barrows (2002) mencionan que los valores obtenidos de REP son útiles en la comparación de diferentes fuentes de proteínas en experimentos simples, por lo que es posible que la REP observada en el presente trabajo sea debido a que se utilizaron las mismas fuentes de proteína en las diferentes dietas experimentales.

VII.5 Coeficiente de digestibilidad aparente del alimento y proteína digestible aparente

En la reciente investigación, se empleó HPT como ingrediente de relleno que permitiera la evaluación del efecto de la disminución de proteína digestible, pero sin modificar el contenido de proteína total y energía bruta de las dietas experimentales. La utilización de este ingrediente resultó en una significativa disminución de la DPR a través del análisis *in vitro* de las dietas, la cual fue también observada en la estimación de la PDA obtenida del análisis *in vivo*. Además los valores obtenidos de la CDA, presentaron una regresión positiva significativa con la PNT en las dietas. Estos resultados son similares a lo reportado en otras especies carnívoras, como el bacalao (*Maccullochella peelii peelii*) y la anguila australiana (*Anguilla australis*), donde el incremento de la digestibilidad de las dietas estuvo altamente relacionado con la digestibilidad proteica, aun cuando la fuente de proteínas provenga de harinas vegetales tratadas para ser mas digestibles (De Silva *et al.*, 2000).

Respecto al uso de bacterias probióticas en dietas y su efecto sobre la PDA, en el presente estudio las dietas D44 y DC presentaron los mayores valores (99 y 98 %, respectivamente), mientras que D29 obtuvo los menores valores de PDA (92 %). Además, los valores de PDA resultaron significativamente diferentes entre tratamientos. En reportes sobre el uso de



HPT como ingrediente de relleno pudo resultar en la disminución de la digestibilidad, en el que a mayor inclusión de este ingrediente en las dietas menores valores de PDA serán observadas (Schwab, 1995; Miller, 2004; Durazo *et al.*, 2009). En este estudio la utilización de HPT derivó en un efecto negativo sobre la PDA y posiblemente redujo el efecto del probiótico sobre la digestibilidad proteica en las dietas. Schrijver y Ollevier (2000), mediante la determinación del peso molecular de proteína soluble como indicador de la digestibilidad de proteína en el tracto digestivo, se reporta que la adición de *Vibrio proteolyticus* como probiótico en dietas para juveniles del lenguado *S. maximus* resultó en un incremento de proteína soluble en la porción proximal del tracto digestivo, sugiriendo que la adición del probiótico proporcionó enzimas digestivas adicionales a las del pez y por lo tanto se mejoró la digestibilidad aparente de la proteína de la dieta. Además se ha reportado que *Bacillus* sp secreta un amplio rango de exoenzimas como amilasas y proteasas que complementan la actividad enzimática del pez e incrementa la digestión de proteínas complejas incluidas en la dieta (Moriarty, 1996; Ochoa-Solano y Olmos-Soto, 2006; Ghosh *et al.*, 2008).

VII.6 Composición proximal en pez entero y tejidos

VII.6.1 Pez entero

El contenido de proteína de pez entero presentó la tendencia a reducirse (21 a 17 % peso húmedo) con respecto a la disminución de proteína digestible en las dietas experimentales; estos resultados coinciden con lo reportado para esta especie por Durazo *et al.* (2009). Una tendencia similar fue reportada para *Epinephelus malabaricus* alimentado con diferentes niveles de proteína en la dieta (Tuan y Williams, 2007). Por su parte, Bureau *et al.* (2000) sugieren que en peces carnívoros, como el salmón y la trucha, el mayor depósito proteico es promovido por mejor disponibilidad de proteínas con alto valor biológico en las dietas.



En cuanto a la composición lipídica de pez entero, ésta mostró la tendencia a incrementarse (3.5 a 4.4 % peso húmedo) en los peces alimentados con las dietas con menores niveles de proteína digestible. Trejo-Escamilla (2009) observó un patrón similar en el almacén de lípidos en pez entero de corvina blanca alimentada con diferentes niveles de carbohidratos en dietas isoproteicas totales suplementadas con un probiótico. Este incremento del contenido de lípidos en pez entero ha sido relacionado con el aumento de la digestibilidad de carbohidratos en las dietas; demostrándose además que la actividad lipogénica es usualmente estimulada por el incremento de los niveles de carbohidratos digestibles (Shimeno *et al.*, 1995; Dias *et al.*, 1998; Sá *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2007). Por otra parte, en estudios con *Bacillus subtilis* utilizados como probiótico, se ha demostrado que producen enzimas digestivas como la amilasa, proteasa y lipasa, enriqueciendo la concentración de enzimas digestivas intestinales (Lee y Lee, 1990; Gatesoupe, 1999; El-Dakar *et al.*, 2007). Lo anterior sugiere que en el presente estudio, el uso del probiótico promovió un incremento de la digestibilidad del almidón adicionado a las dietas y por lo tanto, este nutriente pudo ser absorbido y metabolizado hacia la formación de lípidos en pez completo.

VII.6.2 Músculo

En el presente estudio se observó que tanto el contenido de proteína como de lípidos en el músculo, presentaron una tendencia significativa a incrementarse en los peces alimentados con las dietas con menor contenido de proteína digestible. Trejo-Escamilla (2009) reportó para corvina blanca resultados similares al presente estudio respecto al incremento de lípidos en el músculo. Tales efectos parecen estar relacionados con la estimulación de la lipogénesis debido a un exceso de carbohidratos biodisponibles en la dieta (Enes *et al.*, 2008). Además, Bureau *et al.* (2000) reportaron que los peces alimentados con dietas que no cubren sus requerimientos de proteína y/o



energía tienden a movilizar los lípidos del animal para mantener la depositación de proteínas y favorecer su crecimiento, optimizando los nutrientes de la dieta.

Respecto al contenido de glucógeno en el músculo de los peces, éste presentó un valor promedio de 0.2 % peso húmedo sin mostrar diferencias significativas entre tratamientos. Estos resultados coinciden con Hemre *et al.* (2002) quienes reportaron que valores menores al 1 % de peso húmedo de glucógeno para éste tejido han sido observadas en varias especies de peces, por lo que han sugerido que el contenido de glucógeno en el músculo está más relacionado con la reserva de energía para este tejido en particular, siendo los factores como regímenes de luz y estrés, los que pueden influenciar el contenido de glucógeno en el músculo (Hemre *et al.*, 1991; Hemre *et al.*, 2001; Hemre *et al.*, 2002).

VII.6.3 Hígado

En la presente investigación, tanto el contenido de proteína como de lípidos en el hígado no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, aunque en ambos casos mostraron la tendencia a disminuir respecto al contenido de proteína digestible en la dieta. Resultados similares, respecto al contenido de proteína en hígado de corvina blanca, fueron observados por Durazo *et al.* (2009). Sin embargo, estos autores reportan un incremento significativo en el contenido de lípidos en éste órgano con la modificación de la proteína digestible en la dieta.

Es conocido que el hígado es el órgano donde se lleva a cabo la principal actividad lipogénica en los peces, donde la lipogénesis parece ser estimulada por los carbohidratos e inhibida por elevados contenidos de lípidos de la dieta (Hemre *et al.*, 2002; Sá *et al.*, 2006). Sin embargo, en este trabajo no se observó un incremento de lípidos en el hígado como resultado



del incremento de los carbohidratos en la dieta. En el estudio de Hemre *et al.* (2002) reportan, que a través del uso de glucosa marcada como indicador, la síntesis de lípidos nuevos a partir de carbohidratos es bastante limitada y se encuentra en función del tipo de carbohidrato, reportándose en peces como el lenguado, que la glucosa y maltosa son más lipogénicos que carbohidratos como el almidón, celulosa, fructosa, sacarosa, lactosa o dextrina. En esta investigación se empleó almidón como fuente de carbohidratos, por lo que es posible que el uso de probióticos haya dado lugar a un incremento significativo del contenido de glucógeno en el hígado de los peces alimentados con las dietas experimentales D44 a D29 (13 a 15 % peso húmedo, respectivamente) sin mostrar un incremento de los niveles de lípidos en este órgano. Se ha demostrado en la trucha arcoíris que altos niveles de glucógeno en el hígado (14 % peso húmedo) pueden derivar en la disfuncionabilidad metabólica de este órgano y por lo tanto afectar el crecimiento (Hemre *et al.*, 2002). Sin embargo, en la presente investigación solamente los peces alimentados con las dietas D29 y D34 mostraron las menores tasas de crecimiento respecto a D44 y DC, respectivamente.

VII.7 Parámetros hematológicos

Debido a la falta de información publicada sobre parámetros hematológicos de corvina blanca (*A. nobilis*), este trabajo proporciona los primeros antecedentes en el conocimiento de los aspectos básicos de la hematología de corvina blanca, donde la información aquí brindada fue obtenida al final de un bioensayo de 60 días de alimentación con diferentes dietas experimentales.

VII.7.1 Glóbulos rojos, hematocrito y hemoglobina

En el presente estudio, los valores más altos en GR fueron obtenidos en los peces alimentados con dietas suplementadas con probiótico y un nivel



alto de almidón. El tratamiento D40 fue el que presentó los valores más altos en Hk y Hb, siendo significativo el incremento en Hb respecto al resto de los tratamientos. Zhou *et al.* (2005) mencionan que los valores de GR, Hk y Hb están relacionados con la función inmune no-específica, donde niveles altos de hemoglobina y eritrocitos pueden ser considerados como indicadores de buena salud. De Pedro *et al.* (2004) asociaron el incremento del GR, Hk y Hb como respuesta a un mecanismo de adaptación al aumento del consumo de oxígeno, donde la hemoglobina se incrementa proporcionalmente a la actividad de los peces, de manera que a mayor metabolismo de un animal, se requiere mayor cantidad de oxígeno (Pérez *et al.*, 1983; Srivastava y Sahai, 1987; Montero *et al.*, 2001; Bastardo y Diaz, 2004; Trenzado *et al.*, 2006). El oxígeno representa un papel importante en los procesos de metabolismo aeróbico, especialmente en la obtención de energía derivada de los nutrientes de la dieta, como proteínas, lípidos y carbohidratos (Hochachka y Lutz, 2005; Glencross, 2009). Por lo que debido a que las dietas empleadas en el presente estudio fueron isoenergéticas con diferentes niveles de proteína digestible, es posible que el incremento significativo de los valores de GR en los tratamientos experimentales haya sido el resultado del aumento de la biodisponibilidad de carbohidratos por la adición del probiótico.

VII.7.2 Concentración de hemoglobina corpuscular media

Bastardo *et al.* (2004) reportan que la CHCM está relacionada con la actividad y el hábitat de los peces; mientras que Vives-Corróns y Aguilar-Bascompte (2006) sugieren que las alteraciones en CHCM generalmente obedecen a problemas genéticos o hereditarios, tales como modificaciones de la membrana de los eritrocitos, condensación del contenido hemoglobínico intracelular y/o alteraciones del flujo catiónico transmembranoso. En la presente investigación, la CHCM entre tratamientos presentó un intervalo de 44 a 50 % sin mostrar diferencias significativas.



Subhadra *et al.* (2006) quienes trabajaron la sustitución de harina de pescado por productos derivados del pollo, así como la sustitución parcial y total de aceite de pescado por aceites vegetales en dietas para el pez carnívoro *Micropterus salmoides*, tampoco observaron efectos significativos sobre la CHCM debido a las modificaciones en la dieta.

VII.7.3 Proteína en plasma sanguíneo

Los peces de los tratamientos D34 y D29 presentaron un incremento significativo de la concentración de proteína del plasma sanguíneo (3.5 y 2.5 g dL⁻¹, respectivamente) comparado con el resto de los tratamientos (1.6 g dL⁻¹ valor promedio). Se ha reportado que la concentración de proteína total en el plasma está relacionada con el estado nutricional y la calidad del alimento (Atencio-García *et al.*, 2007). En especies como el salmón del Atlántico y trucha arcoíris el incremento de los valores en éste parámetro se ha relacionado a una respuesta inflamatoria o de hipersensibilidad del tracto digestivo ante condiciones nutricionales inadecuadas por el empleo de altos niveles de harina de soya en las dietas, lo cual se reflejó en una disminución significativa del crecimiento de estos peces (Rumsey *et al.*, 1994; Krogdahl *et al.*, 2000; Peres *et al.*, 2003). En el presente estudio, no fueron empleadas harinas vegetales como fuente de proteínas, sin embargo es posible que el incremento de proteína en el plasma de los peces alimentados con D29 y D34 haya sido resultado de algún tipo de alteración o hipersensibilidad en el tracto digestivo, ya que estos tratamientos fueron los que mostraron los menores valores de crecimiento en peso al final del bioensayo. Sin embargo en el presente estudio no fueron realizados análisis histopatológicos o medición y diferencial de los glóbulos blancos ni la medición de albúmina y globulinas, información que complementarían la respuesta de tales efectos.



VII.7.4 Glucosa en plasma sanguíneo

En la presente investigación se observó que los peces alimentados con D29, D34 y D40 presentaron la mayor concentración de glucosa (165 mg dL^{-1} , valor promedio), respecto a los tratamientos D44 y DC (114 y 80 mg dL^{-1} , respectivamente). Reportes sobre trucha arcoíris alimentados con niveles superiores al 14 % de almidón en dietas, mencionan una reducción significativa de la utilización de glucosa absorbida como fuente de energía y problemas cuando la glucosa en la sangre llegó a niveles de 144 a 180 mg dL^{-1} ; mientras que para la corvina híbrida (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) se reportó que al ser alimentada con niveles mayores a un 20 % de carbohidratos digeribles en la dieta, estos peces presentaron una marcada reducción del crecimiento con valores bajos en la eficiencia alimenticia y en la eficiencia proteica; lo anterior fue relacionado a una rápida absorción de los monosacáridos, por lo que tras un exceso de estos azúcares, la glucosa fue removida rápidamente de la sangre antes de que fuera utilizada eficientemente por las células (Hutchins *et al.*, 1998; Hemre *et al.*, 2002; Rawles *et al.*, 2008).

En el presente estudio, los peces alimentados con los tratamientos con menor cantidad de proteína digerible (D29 y D34) y 22 % de carbohidratos presentaron niveles altos de glucosa en la sangre, con el menor crecimiento en peso, en contraste, los organismos alimentados con la dieta D40 (40 % de proteína digerible), aun con el incremento significativo en los niveles de glucosa en la sangre, mostraron un crecimiento similar al observado en los peces que fueron alimentados con DC y D44 (49 y 44 % de proteína digerible, respectivamente). Hemre *et al.* (2002) reportan que es posible que algunas especies de peces tengan la capacidad de regular en el tiempo elevados niveles de glucosa en la sangre, pues en peces como la cobia y el salmón se ha observado un aumento de la tolerancia hasta niveles de 30 % de carbohidratos en la dieta, debido a que estas especies tienen



reportados intervalos amplios de niveles de glucosa en la sangre como 36 a 126 mg dL⁻¹ y 54 a 180 mg dL⁻¹ para cobia y salmón, respectivamente. Los resultados de este estudio sugieren que juveniles de corvina blanca muestran tolerancia a niveles de glucosa de 167 mg dL⁻¹ al ser alimentados con al menos 40 % de proteína digestible y 22 % de carbohidratos suplementada con probióticos sin afectar el crecimiento.



VIII CONCLUSIONES

1. Los juveniles de corvina blanca alimentados con 40 y 44 % de proteína digestible y un probiótico en sus dietas no mostraron diferencias significativas en el crecimiento en peso y en la tasa de crecimiento específico respecto a la dieta con 49 % de proteína digestible.
2. El IHS y contenido de glucógeno en hígado de juveniles de corvina blanca mostraron una disminución significativa con respecto al incremento de la proteína digestible en las dietas.
3. Las dietas suplementadas con 22% de almidón y un probiótico promovieron un incremento significativo del contenido de glóbulos rojos en la sangre de los peces respecto de la dieta control sin probióticos.
4. Los juveniles alimentados con 29 y 34 % de proteína digestible mostraron los menores valores de crecimiento en peso y los valores más altos de concentración de proteína en la sangre.
5. Juveniles de corvina blanca mostraron tolerancia a niveles de glucosa de 167 mg dL⁻¹ al ser alimentados con al menos 40 % de proteína digestible y 22 % de carbohidratos suplementada con probióticos sin afectar el crecimiento.
6. Dietas con 40 % de proteína digestible suplementadas con 22 % de almidón y un probiótico (*Bacillus sp*) promueven un crecimiento y salud adecuados en juveniles de corvina blanca durante 8 semanas de cultivo.



IX RECOMENDACIONES

Se recomienda investigar sobre el costo/beneficio de la suplementación de bacterias probióticas en dietas formuladas con ingredientes comerciales alternativos en la sustitución parcial de la harina de pescado.

Ampliar la investigación que precise e incremente la información sobre el aporte de las bacterias probióticas en las dietas para peces carnívoros, tanto en los aspectos fisiológicos y metabólicos, como del mejoramiento de condiciones ambientales externas a los organismos.

Realizar estudios a mediano plazo, incluso en cultivos comerciales piloto, sobre los efectos en peces carnívoros del uso de dietas con altos niveles de carbohidratos suplementadas con probióticos.

Finalmente, se sugiere investigar sobre la caracterización hematológica de la corvina blanca bajo diferentes condiciones ambientales y de cultivo, ya que esto ayudará a establecer con mejor precisión el efecto de las variaciones nutricionales en las dietas sobre la condición de salud de los organismos.



X LITERATURA CITADA

- AEP (Anuario Estadístico de Pesca), 2003. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, México. pág. 14-15.
- Agüero-Grande, K.A., 2008. Uso del aceite de clavo como anestésico natural para el manejo rutinario de organismos marinos en laboratorio. Tesis de Licenciatura. UABC-FCM. Ensenada, B.C. 36 pp.
- Agúndez-Amador, A., 2007. Efectos del nivel de proteína en la dieta en el crecimiento y composición corporal de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) bajo condiciones de cultivo. Tesis de maestría. UABC-FCM. Ensenada, B. C. 51 pp.
- Alarcón, F.J., Moyano, F.J., Díaz, M., 1999. Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparus aurata*). Aquatic Living Resource 12, 233–238.
- Amoah, A., Coyle, S.D., Webster, C.D., Durborow, R.M., Bright, L.A., Tidwell, J.H., 2008. Effects of Graded Levels of Carbohydrate on Growth and Survival of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). Journal of The World Aquaculture Society 39, 3.
- Anderson, J.S., Lall, S.P., Anderson, D.M., McNiven, M.A., 1993. Evaluation of protein quality in fish meals by chemical and biological assays. Aquaculture 115, 305-325.
- Antoniewicz, A.M., Van Vuuren, A.M., Van Der Koelen, C.J., Kosmala, I., 1992. Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of formaldehyde-treated feedstuffs measured by mobile bag and in vitro technique. Animal Feed Science and Technology 39, 111-124.



AOAC (Association of Official and Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis of AOAC. 16th. Edition. Vol. 1. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Árnason, J., Imsland, A.K., Gústavsson, A. Gunnarsson, S., Arnarson, I., Reynisson, H., Jónsson, A.F., Smáradóttir, H., Thorarensen, H., 2009. Optimum feed formulation for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.): Minimum protein content in diet for maximum growth. *Aquaculture* 2009. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.03.025.

Atencio-García, V., Genes-López, F., Madariaga-Mendoza, D., Pardo-Carrasco, S., 2007. Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio *Salminus affinis* (Pisces: Characidae) del río Sinú. *Acta biol. Colomb.* 12, 27–40.

Bascinar, N., Cakmak, E., Cavdar, Y., Aksungur, N., 2007. The Effect of Feeding Frequency on Growth Performance and Feed Conversion Rate of Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 7, 13-17.

Bastardo, A., Díaz, B.R., 2004. Parámetros hematológicos de la paragua *Chaetodipterus faber*, Broussonet (Pices: Ehippidae), en condiciones de cultivo. *Zootecnia Trop.*, 22(4), 361-370.

Briggs-Fajardo, D.I., 2006. Digestibilidad en corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) utilizando harina de soya como fuente parcial de proteína. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C.38 pp.



- Bureau, D.P., Azevedo, P.A., Tapia-Salazar, M., Cuzon, G., 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: Potential implications and applications. In: Cruz-Suarez, L.E., Rique-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y R. Civera-Cerecedo. Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México.
- Bureau, D.P., Kaushik, S.J., Cho, C.Y., 2002. Bioenergetics. En: Halver, J.E. y R.W. Hardy. 2002. Fish Nutrition. Academic Press. E.U.A. 824 pp.
- Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S.J., 2001. Effects of rapeseed meal glucosinolates on thyroid metabolism and feed utilization in rainbow trout. Gen. Comp. Endocrinol. 124, 343–358.
- California Department of Fish and Game, 2002. Review of some California fisheries for 2001: Market squid, sea urchin, dungeness crab, lobster, prawn, abalone, groundfish, swordfish and shark, coastal pelagic finfish, ocean salmon, nearshore live-fish, Pacific herring, white seabass and kelp. CalCOFI Report 43. 13- 30.
- Casas-Guerrero, R., Dettmer, J., 2007. El Sector acuícola en el noroeste de México: importancia del conocimiento y la innovación. Investigación en el marco del proyecto titulado: "PyMES: Redes de conocimiento, actividad innovativa y desarrollo local", Año 2, Núm. 19.
- Catacutan, M.R., Coloso, T.M.T., 1995. Effect of dietary protein to energy rations on growth, survival and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. Aquaculture, 131, 125–133.



- Chávez-Sánchez, M.C., Álvarez-Lajonchère, L., Abdo de la Parra, M.I., García-Aguilar, N., 2008. Advances in the culture of the Mexican bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*, Jenyns (1842). *Aquaculture Research* 39, 718-730.
- Cho, C.Y., Kaushik, S.J., 1990. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilisation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Rev. Nut. Diet.* Karger, Basel 6, 132–172.
- Cho, S.H., Lee, S.M., Lee, S.M., Lee, J.H., 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition* 2005 11, 235–240.
- Córdova-Murueta, J.H., García-Carreño, F.L., 2002. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture*. 210, 371-384.
- Cowey, C.B., 1995. Intermediary metabolism in fish with reference to output of end products of nitrogen and phosphorus. *Water Sci. Technol.*, 31, 21–28.
- Cowey, C.B., Walton, M.J., 1989. Intermediary metabolism. In: *Fish Nutrition*, 2nd edn (Halver, J.E. ed.), pp. 260–329. Academic Press, California.
- Cruz-Hernández, A.C., 2007. Utilización de harina de pescado tratada con formaldehído para determinar el requerimiento proteico en juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) en condiciones de cultivo. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C. 56 pp.



- Davis, D.A., Miller, C.L., Phelps, R.P., 2005. Replacement of fish meal with soybean meal in the production diets of juvenile red snapper (*Lutjanus cumpechunus*). *Journal of the World Aquaculture Society* 36, 1.
- De Pedro, N., Guijarro, A., López-Patiño, M.A., Martínez-Álvarez, R.M., Alonso-Bedate, M., Delgado, M.J., 2004. Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca (*Tinca tinca*): ritmos diarios y estacionales. *Comunicación Científica CIVA*, 173-190.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. 1er. Edition. Chapman and Hall. London. 319 pp.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M., Gooley, G., 2000. Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peelii* and the Australian shortfin eel *Anguilla australis*. *Aquac. Res.*, 31, 195–205.
- Dias J., Alvarez M. J., Diez A., Arzel J., Corraze G., Bautista J. M., y Kaushik, S. J. 1998. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 161, 169–186.
- Dias, J., Huelvan, C., Dinis, M.T., Mailler, R., 1998. Influence of dietary bulk agents (silica, cellulose and a natural zeolite) on protein digestibility, growth, feed intake and feed transit time in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquat. Living Resource* 11, 219–226.
- Durazo, E., Cruz, A.C., López, L.M., Lazo, J.P., Drawbridge, M., Viana, M.T., 2009. Effects of digestible protein levels in isonitrogenous diets on



growth performance and tissue composition of juvenile *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture Nutrition* 2009. doi: 10.1111/j.1365-2095.2008.00640.x.

El-Dakar, A.Y., Shalaby, S.M., Saoud, I.P., 2007. Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish (*Siganus rivulatus*) survival and growth. *Aquaculture Nutrition*, 13, 407–412.

EL-Haroun, E.R., Goda, A., Chowdhury, M.A.K., 2006. Effect of dietary probiotic Biogens supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*, 37, 1473-1480.

Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., Oliva-Teles, A., 2006. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 143, 89–96.

Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., Oliva-Teles, A., 2008. Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 274; 101–108.

FAO. 2009. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2008. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. Pp 218.

Fernández, F., Miquel, A.G., Córdoba, M., Varas M., Metón, I., Caseras, A. Banante, V.I., 2007. Effects of diets with distinct protein-to-



carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fingerlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 343, 1-10.

- 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.
- Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, L., Venou, B., 2005. Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 36, 1243-1251.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227.
- Fuller, R., 1992. History and development of probiotics. En: R. Fuller. (Ed), *Probiotics. The Scientific Basis.* Champman and Hall, New York, NY. 1-8 p.
- Furukawa, H., Tsukahara, H., 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish fed. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 32(6), 502-508.
- Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, M.E., Ruas de Moraes, F., Martins, L.M., 2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 271, 39-46.



- Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147–165.
- Gaylord, T.G., Rawles, S.D., Gatlin, D.M., 2004. Amino acid availability from animal, blended, and plant feedstuffs for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture Nutrition* 10, 345–352.
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquaculture Nutrition* 14, 289–299.
- Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E., Ringø, E., 1997. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Hydrobiologia* 352, 270–285.
- Glencross, B.D., 2009. Reduced water oxygen levels affect maximal feed intake, but not protein or energy utilization efficiency of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 15, 1–8.
- Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G.L., 2007. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition* 13, 17–34.
- Goddard, S., 1996. *Feed Management in Intensive Aquaculture*, Chapman y Hall, New York, 194 pp.
- Hansen, A.C., Karlsen, O., Rosenlund, G., Rimbach, M., Hemre, G.I., 2007. Dietary plant protein utilization in Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Aquaculture Nutrition* 13, 200–215.



- Hardy, R.W., 1999. Collaborative opportunities between fish nutrition and other disciplines in aquaculture: an overview. *Aquaculture* 177, 217–230.
- Hardy, R.W., Barrows, F.T., 2002. Diet formulation and manufacture. In: Halver J.E. y Hardy R. W. *Fish Nutrition*. 3 th edition. Academic Press, San Diego, U.S.A. 824 pp.
- Hemre, G.I., Bjornevik, M., Beattie, C., Bjornsson, B.T., Hansen, T., 2001. Dietary carbohydrate influence on photo period manipulations affecting growth and salt-water tolerance in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquacult.Nutrition* 7, 1–10.
- Hemre, G.I., Lambertsen, G., Lie, O., 1991. The effect of dietary carbohydrate on the stress response in cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 95, 319–328.
- Hemre, G.I., Mommsen, T.P., Krogdahl, A., 2002 Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition* 8; 175-194.
- Hepher, B., 1993. *Nutrición de peces comerciales en estanques*. LIMUSA. México, D.F. pp. 193-233.
- Herman, R.L., 1970. Effects of gossypol on rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 2, 293–297.



- Hilton, J.W., Atkinson, L.J., 1982. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets. *British Journal of Nutrition* 47, 597–607.
- Hilton, J.W., Plisetskaya, E.M., Leatherland, J.F., 1987. Does oral 3,5,3 - triiodo-L-thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiol.Biochem.* 4, 113–120.
- Hochachka, P.K., Lutz, P.L., 2005. Mechanism, origin and evolution of anoxia tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology: part B*, 130, 435-459.
- Hutchins, C.G., Rawles, S.D., Gatlin, D.M., 1998. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture* 161, 187–199.
- Ingram, G.A., 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection – A review. *J. Fish Biol.* 16, 23–60.
- Jaramillo-Schadebroth, N., 2005. Estudio hematológico básico del puye (*Galaxias maculatus*) en estado postlarval y adulto. Tesis de Licenciatura. Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco. Temuco, Chile. 86 pp.
- Kent, D.B., Ford, R.F., Drawbridge, M.A., 2001. Experimental culture and evaluation of enhancing marine fishes in Southern California. The California Department of Fish and Game and the Ocean Resources Enhancement and Hatchery Program Advisory Panel. 66 pp.



- Keysami, M.A., Saad, C.R., Sijam, K., Daud, H.M., Alimon, A.R., 2007. Effect of *Bacillus subtilis* on growth development and survival of larvae (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man). *Aquaculture Nutrition* 13, 131–136.
- Krogdahl, A., Bakke-Mckellep, A.M., Roed, K.H., Baeverfjord, G., 2000. Feeding Atlantic salmon *Salmo salar* L. soybean products: effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa. *Aquaculture Nutrition* 6, 77–84.
- Krogdahl, A., Hemre, G.I., Mommsen, T.P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition* 11, 103-122.
- Lara, F. M., Olvera, N.M.A., Guzman, M.B.E., López, M.W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus fecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cereviseae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis nloticus*). *Aquaculture* 216, 193-201.
- Lazo, J.P., Romaine, R., Reigh, R.C., 1998. Evaluation of three *in vitro* enzyme assays for estimating protein digestibility in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, 4.
- Lee, S.Y., Lee, B.H., 1990. Esterlytic and lipolytic activities of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* L129. *Food Sci.* 55, 119.
- López, L.M., Durazo, E., Viana, M.T., Drawbridge, M., Bureau, D.P., 2009. Effect of dietary lipid levels on performance, body composition and



- fatty acid profile of juvenile white seabass, *Atractoscion nobilis*, Aquaculture 289, 101-105.
- López, L.M., Torres, A.L., Durazo, E., Drawbridge, M., Bureau, D.P., 2006. Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. Aquaculture 253, 557-563.
- Lovell, R.T., 1989. Nutrition and Feeding of Fish. p. 260. Van Nostrand Reinhold, New York, USA.
- Marcouli, P.A., Alexis, M.N., Andriopoulou, A., Liopoulou-Georgudaki, J., 2006. Dietary lysine requirement of juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition 12, 25–33.
- Martínez-Montaño, E., 2007. Digestibilidad proteica en el lenguado de california (*Paralichthys californicus*): ontogénesis y comparación de dos métodos de evaluación in vitro. Tesis de Maestro en Ciencias, CICESE, Ensenada, B. C. 110 pp.
- Mbahinzireki, G.B., Dabrowski, K.J., EL-Saidy, D., Wisner, E.R., 2001. Growth, feed utilization, and body composition of tilapia (*Oreochromis sp.*) fed cottonseed meals based diets in a recirculating system. Aquaculture Nutrition 7, 189–200.
- Miller, E.L., 2004. Protein nutrition of farmed livestock and dietary supply. In: Proceedings 1 Protein Sources for the Animal Feed Industry. Ed. FAO Animal Production and Health Rome. pp. 29–76.



- Montero D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort, L., Caballero, M.J., Izquierdo, M.S., 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effect on fish health. *Aquaculture* 225, 353–370.
- Montero D., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M., Izquierdo, M.S., 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.* 11, 473–490.
- Moon, T.W., 2001. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 129, 243-249.
- Moreira, I.S., Peres, H., Couto, A., Enes, P., Oliva-Teles, A., 2008. Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilization of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 274, 153–160.
- Moriarty, D.J.W., 1996. Probiotics and bioremediation in aquaculture. *Asian Shrimp News* 26, 3.
- Murray, D.D., 2004. Canola Protein concentrate as a feed ingredient for salmonid fish. In: Cruz Suarez, L. E., Ricque Marie, D., Nieto López, M. G., Villareal, D., Scholz, U. y González, M. 2004. *Avances de Nutrición Acuícola VII. Memorias de VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.* Hermosillo, Sonora, México.
- Ochoa-Solano, L., 2006. Desarrollo de probióticos para la camaronicultura. Tesis de Doctorado en Ciencias, CICESE, Ensenada, B. C. 99 pp.
- Ochoa-Solano, L., Olmos-Soto, J., 2006. The functional property of *Bacillus* for shrimp feed. *Food Microbiology*, 23, 519-525.



- Page, J.W., Andrews, J.W., 1973. Interaction of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr. 103, 1339–1346.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., Sugita, H., 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 243, 241–254.
- Peres, H., Lim, C., Klesius, P.H., 2003. Nutritional value of heat-treated soybean meal for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 225, 67–82.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 2002. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture 205, 287–299.
- Peres, M.H., Goncalves, P., Oliva-Teles, A., 1999. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 179, 415–423.
- Perez, J., Ojeda, G., Antón, A., 1983. Blood parameters in fishes II. Oxygen affinity, root effect, pH and the number of hemoglobin in some marine fishes of eastern Venezuela Bol. Inst Oceanog. Venezuela. Univ. Oriente 22, 1-7.
- Plummer, 1987. An Introduction to Practical Biochemistry, 3rd edn. McGraw Hill Book, Maidenhead, Berkshire, UK.



- Rawles, S.D., Smith, S.B., Gatlin, D.M., 2008. Hepatic glucose utilization and lipogenesis of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) in response to dietary carbohydrate level and complexity. *Aquaculture Nutrition* 14, 40–50.
- Ringo, E., Gatesoupe, F.J., 1998. Lactic acid bacteria in fish. *Aquaculture* 160, 177–203.
- Rumsey G. L., Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Bowser, P.R., 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth and protein utilization in rainbow trout. *Vet. Immunopathol.* 41, 323–339.
- Sa, R., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2006. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 12, 310-321.
- Sa, R., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2007 Growth performance and metabolic utilization of diets with different protein:carbohydrate ratios by white sea bream (*Diplodus sargus*, L.) juveniles. Short communication. *Aquaculture Research* 38, 100-105.
- Sáenz de Rodríguez, M., Díaz-Rosales, P., Chabrilón, M., Smidt, H., Arijo, S., León-Rubio, J.M., Alarcón, F.J., Balebona, M.C., Moríñigo, M.A., Cara, J.B., Moyano, F.J., 2009. Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegale sole (*Solea senegalensis*. Kaup, 1858). *Aquaculture Nutrition* 15, 177-185.



- Sampaio-Oliveira, A.M.B.M., Cyrino, J.E.P., 2008. Digestibility of plant protein-based diets by largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition* 14, 318-323.
- Sánchez-Lozano, N.B., Tomás-Vidal, A., Martínez-Llorens, S., Nogales-Mérida, S., Espert-Blanco, J., Moñino-López, A., Pla-Torres, M., Jover-Cerdá, M., 2007. Growth and economic profit of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed sunflower meal. *Aquaculture* 272, 528–534.
- Sandnes, K., Lie, O., Waagebo, R., 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *J. Fish Biol.* 32, 129–136.
- Schrijver, R.D., Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus*. *Aquaculture* 186, 107–116.
- Schwab, C.G., 1995. Protected proteins and amino acids for ruminants. In: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding* (Wallace R. J. y Chesson A. eds) pp. 116–141. VCH Weinheim, Germany.
- Shimeno S., Hosokwa H., Takeda, M., 1979. The importance of carbohydrate in the diet of a carnivorous fish. Pages 127–143 in J. E. Halver and K. Tiews, editors. *Finfish nutrition and fish feed technology*, volume 1. Heeneman Gmbh, Berlin, West Germany.
- Shimeno, S., Kheyyali, D., Shikata, T., 1995. Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp. *Fisheries Sci.* 61, 977–980.



- Shiozaki, Y., Taoka, Y., Yoshikawa, T., Sakata, T., 2006. Characterization of *Bacillus* sp. PU-T8 Isolated from Tiger Puffer Fish *Takifugu rubripes* as probiotics. Mem. Fac. Fish Kagoshima Univ., Vol. 55, pp. 79-86.
- Srivastava, S., y Sahai, I., 1987. Effects of loading density on carbohydrate metabolism and hematology in the Indian freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. Aquaculture 66, 275–286.
- Storebakken, T., Austreng, E., 1987. Ration level for salmonids. growth, survival, body composition, and feed conversion in atlantic salmon fry and fingerlings. Aquaculture. 60, 189-206.
- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S., Chen, R., 2006. Effect of fish-meal replacement with poultry by-product meal on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed diets containing different lipids. Aquaculture 260, 221–231.
- Torres-Cobian, A.L., 2005. Respuesta de juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis* a diferentes concentraciones de lípidos en la dieta. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B. C., 84 pp.
- Trejo-Escamilla, I., 2008. Respuesta de crecimiento de juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con bacterias probióticas. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C. 46 pp.



- Trenzado, C.E., Morales, A.E., De la Higuera, M., 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture* 258, 583–593.
- Tuan, L.A., Williams, K.C., 2007. Optimum dietary protein and lipid specifications for juvenile malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 267, 129–138.
- Valenzuela, A., Silva, V., Oyarzún, C., 1999. Caracterización cualitativa y cuantitativa de células sanguíneas de robalo *Eleginops macloviinus* (Valenciennes, 1830) (Pisces, Eleginopsidae) en la desembocadura del río Biobío. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 34 (2), 261–267.
- Valenzuela, A., Oyarzún, C., Silva, V., 2003. Blood cells of the *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): the leukocytes (Elasmobranchii, Scyliorhinidae). *Gayana* 67 (1), 130–137.
- Vigliano, F.A., Quiroga, M.I., Nieto, J.M., 2002. Adaptaciones metabólicas al ayuno y realimentación en peces. *Rev. ictiol.* 10 (1/2), 79–108.
- Vives-Corróns, J. L., Aguilar-Bascompte, J.L., 2006. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*. Tercera edición. Elsevier, MASSON. 776. Pag.
- Vojtkovich, M., Crooke, S., 2001. White Seabass. California's living marine resources: A Status Report. W. S. Leet, C. M. Dewees, R. Klingbeil and E. Larson. Davis CA, University of California Sea Grant: 582 pp.



- Wang, Y., Li, J.G. K., Bureau, D.P. 2006. Effects of dietary protein and energy levels on growth, feed utilization and body composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). *Aquaculture* 252, 421-428.
- Wang, Y.B., 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 269, 259–264.
- Wang, Y.-B., Tian, Z.-Q., Yao J.,-T., Li W.-F., 2008. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture* 277, 203-207.
- Wilson R.P. 2002. Aminoacids and proteins in: Halver, J. E., Hardy, R. W. (eds.), *Fish Nutrition 3rd edition*. Academic Press, San Diego, pp 143-179.
- Wilson, R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124, 67–80.
- Yue Y.-R., Zhou Q.-C., 2008. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture* 284, 185–189.
- Zhou, Q.C., Mai, K.S., Tan, B.P., Liu, Y.J., 2005. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition* 11, 175–182.