

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



**EFFECTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA DE SOYA EN LA DIETA
SOBRE LA HEMATOLOGÍA Y QUÍMICA SANGUÍNEA EN
JUVENILES DE TOTOABA (*Totoaba macdonaldi*).**

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA

PRESENTA:
HERACLIO MANUEL ESPINOSA ACEVEDO

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. JUNIO 2014

**EFFECTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA DE SOYA EN LA DIETA
SOBRE LA HEMATOLOGÍA Y QUÍMICA SANGUÍNEA EN
JUVENILES DE TOTOABA (*Totoaba macdonaldi*).**

TESIS

Para obtener el título de:

Licenciado en Biotecnología en Acuacultura

Presenta:

Heraclio Manuel Espinosa Acevedo

Aprobada por:



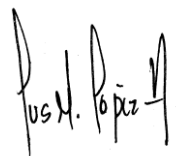
Director de tesis

Dr. Mario Alberto Galaviz Espinoza



Sinodal

Dra. Maricela Flores Ibarra



Sinodal

Dra. Lus Mercedes López Acuña

DEDICATORIA

CON AMOR Y CARIÑO PARA MIS PADRES, SU ESFUERZO HA CULMINADO EN ESTE
TRABAJO A TRAVÉS DE MÍ, REGALÁNDOME LA MEJOR DE LAS HERENCIAS.

MAMA Y PAPA
MERCEDES ACEVEDO Y SANTIAGO ESPINOSA

A MI HERMANO
VIDAL EMMANUEL
A ABRIL ESPINOSA (HERMOSA SOBRINITA)

A MIS ABUELOS.
QUE HAN ENFRENTADO LAS DIFICULTADES DE LA VIDA CON PACIENCIA, AMOR Y
FE. MI MOTIVACIÓN PARA NO RENDIRME NUNCA EN CADA UNO DE MIS
PROPÓSITOS.

EPIFANIO ACEVEDO (TATA PIFAS) Y ELVIRA MEZA

A MIS TIOS
CINIA, FERMIN Y VIOLETA
Y MIS PRIMOS.
AARON, AZIEL, YULI, NAN, KEYLA, JOSUE, YINA, ERICK, ALEX Y UZIEL
QUE ESTE TRABAJO SEA MOTIVACIÓN PARA QUE NO SE RINDAN NUNCA
EN SUS PROPÓSITOS.

“Educar no es dar una carrera para vivir, sino temprar el alma para las dificultades
de la vida” Pitágoras.

AGRADECIMIENTOS

LOS AGRADECIMIENTOS ESTÁN DIRIGIDOS A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA Y LA FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS POR PERMITIRME SER UNO DE SUS EGRESADOS Y DARME LAS HERRAMIENTAS PARA ENFRENTAR LOS PROBLEMAS Y DIFICULTADES DURANTE LA PRÓXIMA ETAPA COMO PROFESIONAL.

MIS MÁS SINCEROS AGRADECIMIENTOS A LOS DOCTORES MIEMBROS DEL COMITÉ, POR SUS RECOMENDACIONES EN EL ESCRITO DE TESIS Y PERMITIRME FORMAR PARTE DE ESTE TRABAJO.

DR. MARIO GALAVIZ ESPINOZA.

DRA. LUS MERCEDES LÓPEZ ACUÑA

DRA. MARICELA FLORES IBARRA

GRACIAS POR CONFIAR EN MI, POR LOS CONOCIMIENTOS APORTADOS PARA MEJORAR COMO ESTUDIANTE Y FORMAR A UN MEJOR PROFESIONISTA.

GRACIAS AL DR. CONAL TRUE Y MIEMBROS DE LA UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA EN PISCICULTURA POR LA AYUDA DURANTE EL BIOENSAYO Y A LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO DE NUTRICIÓN QUE PARTICIPARON EN EL TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE ESTE ESTUDIO.

GRACIAS A LA M. EN C. IDALY TREJO ESCAMILLA POR PERMITIRME INTEGRAR AL EXPERIMENTO Y REGALARME SU CONFIANZA PARA TRABAJAR EN EQUIPO DURANTE EL DESARROLLO EXPERIMENTAL

FINALMENTE QUIERO DAR LAS GRACIAS A MI FAMILIA QUE SU ESFUERZO HA SIDO BASE DE CONSEJOS, REGAÑOS Y EL DESEO DE FORMAR A UN HOMBRE DE BIEN.

GRACIAS MAMA Y PAPA

MERCEDES ACEVEDO MEZA Y SANTIAGO ESPINOSA GROSSO.

Y

HERMANO

VIDAL EMMANUEL ESPINOSA ACEVEDO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

**EFFECTO DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA DE SOYA EN LA DIETA
SOBRE LA HEMATOLOGÍA Y QUÍMICA SANGUÍNEA EN
JUVENILES DE TOTOABA (*Totoaba macdonaldi*).**

Heracio Manuel Espinosa Acevedo

RESUMEN

Algunos de los parámetros a evaluar para conocer el rendimiento de un cultivo acuícola son la supervivencia, el crecimiento y la eficiencia en la utilización del alimento, sin embargo, la salud de los peces juega un papel muy importante en estos aspectos debido a que un desequilibrio del estado de salud interviene en los costos de producción. Una de las herramientas para evaluar y diagnosticar cualquier alteración relacionada con el estado fisiológico y metabólico de los organismos es la hematología y la química sanguínea. En el presente estudio, se evaluó la respuesta en la hematología y química sanguínea de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados durante ocho semanas con dietas isoprotéicas e isoenergéticas que contenían distintos niveles de proteína de soya (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 y 100 %) denominadas como DC, SP15, SP30, SP45, SP60, SP75, SP90 y SP100. Para conocer el efecto de la inclusión de proteína de soya se evaluó la salud de los peces mediante conteo de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina (hematología), media del volumen celular, media de la concentración de hemoglobina y concentración media de hemoglobina celular (índices eritrocitarios o Wintrobe) y en plasma glucosa, proteína total, albumina y relación albumina: globulinas (química sanguínea). Los resultados obtenidos mostraron que el peso ganado (PG) fue significativamente mayor en los peces alimentados con 15 y 30 % de proteína de soya respecto a los otros tratamientos, además fueron significativamente mayores en la ingesta diaria de alimento (ID) y menores significativamente en la tasa de conversión alimenticia (TCA), pero sin diferencias significativas con la DC y SP45, respectivamente. En la salud de los peces se observó una disminución en la concentración de glóbulos rojos, hematocrito y hemoglobina siendo estos dos últimos significativamente mayores en los organismos alimentados hasta con 30 % de proteína de soya (SP30) con respecto a los tratamientos de mayor inclusión, los Índices Wintrobe no mostraron una tendencia clara, sin embargo, de acuerdo a la media del volumen celular del eritrocito (MVC), las variables de MHC y MCHC expresaron valores reducidos en la DC sin inclusión de proteína de soya y en las dietas SP90 Y SP100, lo cual podría

ser un trastorno del eritrocito debido a los niveles bajos en la concentración de hemoglobina (eritrocito hipocrómico) observado en los organismos alimentados con las dietas DC, SP90 y SP100. La concentración de glucosa en plasma no mostró una tendencia clara entre los tratamientos, vario entre 35 y 56 mg dL⁻¹, la proteína total y albumina disminuyeron con la inclusión de proteína de soya en la dieta, la Pt en plasma fue mayor significativamente en el tratamiento DC y la Alb fue menor significativamente en la dieta SP90 con respecto a los otros tratamientos. La relación Alb:Glb mostró una menor concentración de albumina y globulinas siendo menor en las dietas DC. SP15, SP90 Y SP100 con respecto a los tratamientos con niveles de inclusión de 30 a 75 % de proteína de soya. Los resultados de este estudio sugieren que la salud de los peces no es afectada con un reemplazo de hasta 45 % de proteína de soya por proteína de pescado durante el periodo de 8 semanas de cultivo de juveniles de *T. macdonaldi*.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
I. Composición proximal de las dietas experimentales utilizadas para juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> , variando los niveles de proteína de soya (g 100 ⁻¹ g de muestra).....	16
II. Resultados de parámetros biológicos y de crecimiento obtenidos con juveniles de <i>T. macdonaldi</i> alimentados con distintos niveles de inclusión de proteína soya en la dieta.....	22
III. Variables hematológicas de la línea roja en juveniles de <i>T. macdonaldi</i> alimentados con distintos niveles de inclusión de proteína soya en la dieta.....	24
IV. Química plasmática de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con distintos niveles de inclusión de proteína de soya en la dieta.....	26

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	Pág. III
ÍNDICE DE TABLAS	V

ÍNDICE GENERAL

1.0. INTRODUCCIÓN	1
2.0. ANTECEDENTES	8
2.1. ANTECEDENTES DE LA ESPECIE DE ESTUDIO.	8
2.2. HEMATOLOGÍA EN PECES.....	9
3.0. HIPÓTESIS	14
4.0. OBJETIVO GENERAL	14
4.1. OBJETIVOS PARTICULARES.....	14
5.0. METODOLOGÍA.....	15
5.1 DIETAS EXPERIMENTALES.....	15
5.2. OBTENCIÓN DE ORGANISMOS	16
5.3. SISTEMA DE CULTIVO EXPERIMENTAL	16
5.4. MUESTREO DE ORGANISMOS	17
5.5. MUESTREO DE SANGRE.....	17
5.6. ESTUDIOS DE HEMATOLÓGÍA Y QUÍMICA SANGUÍNEA.....	17
5.7. PARÁMETROS DE CRECIMIENTO	19
5.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
6.0. RESULTADOS	22

6.1. Parámetros de Crecimiento y Supervivencia	22
6.2. HEMATOLOGÍA.....	24
6.2.1. Glóbulos Rojos y Hematocrito.....	24
6.2.2. Hemoglobina	25
6.2.3. Índices Wintrobe	25
6.3. QUÍMICA SANGUÍNEA.....	25
6.3.1. Glucosa.....	26
6.3.2. Proteína	26
6.3.3. Albumina	27
6.3.4. Globulinas	27
6.3.5. Relación Albumina: Globulina (Alb: Glb)	27
7.0. DISCUSIONES.....	28
7.1. Parámetros de Crecimiento.....	28
7.2. Hematología y Química sanguínea.	30
7.2.1. Glóbulos rojos, Hematocrito y Hemoglobina	30
7.2.2. Índices Wintrobe.	35
7.3. Química plasmática.....	37
7.3.1. Glucosa.....	37
7.3.2. Proteína, Albumina y relación Albumina: Globulinas.....	38
8.0. CONCLUSIONES.....	41
9.0. BIBLIOGRAFIA	41

1.0. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad que tiene como objetivo la producción de especies acuáticas en medios controlados o semi-controlados, en ambientes naturales o artificiales a distintas escalas de cultivo (Castelló, 1993; Mata, 2010). La práctica de esta actividad ha permitido que ésta se sitúe como uno de los principales sectores de producción de alimento, presentando un crecimiento anual del 6%, superior al que puede ofrecer cualquier otra industria del sector agropecuario y pesca. Este crecimiento sostenido se ha dado en gran parte a que la pesca se encuentra en un estancamiento, siendo 2009 el año en que alcanzó su nivel tope de capturas con un total de 90 millones de toneladas anuales (FAO, 2012).

Dentro de las actividades que integran al sector productivo acuícola (la acuicultura) se encuentran el cultivo de moluscos, crustáceos, anfibios, plantas y peces. En 2011 se abastecieron 63,6 millones de toneladas al mercado de productos cultivados, lo que representa el 41.3% de la producción mundial (excluyendo la producción por plantas). La piscicultura constituye más del 60% de la producción mundial acuícola con un volumen de 40 millones de toneladas, sin embargo, la producción de peces marinos por maricultura solo representan el 3.1%, equivalente a 1.8 millones de toneladas (FAO, 2012).

El poco éxito de la piscicultura marina se debe al poco desarrollo en tecnología y problemas asociados con la nutrición, esto último representa la principal limitante para el desarrollo de cultivo de peces, considerando que el alimento llega a representar cerca del 60% de los costos de producción (Anderson

et al., 1993). En especies de peces carnívoros la alimentación tiene un efecto más notable, debido a que los requerimientos de proteína en la dieta son más elevados y forman uno de los componentes más importantes en la nutrición, siendo las proteínas el constituyente orgánico más abundante en los peces (Wilson, 2002).

La harina de pescado como aporte de proteína en el alimento formulado para peces carnívoros es uno de los principales insumos de la industria acuícola, demandando más del 80% de la producción mundial de este nutriente, ya que los peces requieren cantidades superiores de 45 % de proteína en sus dietas. Por lo tanto, en el estudio de la nutrición en peces marinos carnívoros, es fundamental el desarrollo de dietas con un menor costo, utilizando otras fuentes de proteínas más económicas y disponibles que permitan el desarrollo de la actividad sin ocasionar problemas relacionados al crecimiento y salud de los peces en cultivo (Moksness *et al.*, 2004; Tacon y Metian, 2008).

En México, el cultivo de peces marinos representa un gran potencial, debido a la gran extensión de litoral y zonas para su cultivo; los pocos cultivos existentes se localizan en el noroeste del país. Sin embargo, la gran diversidad de especies con gran potencial para cultivo (peces marinos) que representan un elevado valor en el mercado, requieren de un grado tecnológico desarrollado para llevar a esta actividad a escala de cultivo comercial (Álvarez *et al.*, 1999; Avilés-Quevedo y Castelló-Orvay, 2004).

Dentro de las especies marinas con potencial acuícola en México que cuentan con un estado de desarrollo tecnológico y con un alto valor comercial en el mercado nacional e internacional se encuentran el lenguado de california (*Paralichthys californicus*), jurel cola amarilla (*Seriola lalandi*), cabrilla arenera

(*Paralabrax maculatofasciatus*), pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), botete diana (*Sphoeroides annulatus*), corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) y totoaba (*Totoaba macdonaldi*) (Kent *et al.*, 2001; Civera-Cerecedo *et al.*, 2002; Conklin *et al.*, 2003; Avilés-Quevedo y Castelló-Orvay, 2004; Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchere, 2011; Duncan *et al.*, 2003; Gisbert *et al.*, 2004; García-Ortega *et al.*, 2009; López *et al.*, 2009; Galaviz *et al.*, 2011; True, 2012). Para que estas especies tengan éxito en el desarrollo a escala comercial, la formulación y elaboración de dietas a bajo costo es fundamental, además es necesario que las dietas formuladas confieran crecimientos adecuados, sobrevivencias elevadas y organismos saludables (Silva-Carrillo *et al.*, 2012).

Con base a lo anterior, es indispensable la sustitución de los productos que aportan los nutrientes como proteínas y lípidos derivados del pescado, con el fin de elaborar dietas a bajo costo, debido a que los productos primarios para la elaboración de harinas que provienen principalmente de la pesquería de pelágicos menores como sardina, arenque y anchoveta, han disminuido durante los últimos años, además se ha observado que estas pesquerías se encuentran sobre explotadas, aunado a que las diez principales poblaciones de peces de captura a nivel mundial se encuentran en un estado de estancamiento con pocas posibilidades de recuperación (Tacon y Metian, 2008; FAO, 2010; FAO, 2012).

Para la acuicultura esto representa un aumento en costos, porque los productos escasean y a la vez se encarecen para el desarrollo de esta actividad que ha crecido significativamente en los últimos años. La utilización de proteína derivada del pescado es fundamental para la alimentación de los organismos de cultivo, por ser estos ingredientes los que contienen un perfil de aminoácidos adecuado, alta

digestibilidad y bajo contenido de sustancias antinutricionales, lo que da como resultado excelentes rendimientos en cultivo. Sin embargo, como ya se comentó, el alimento formulado para estas especies es costoso debido a la poca disponibilidad de harina de pescado en el mercado, lo que obliga a buscar fuentes alternativas de proteína para apoyar crecimiento de la acuicultura (Gatlin *et al.*, 2007; Kasper *et al.*, 2007; FAO, 2010; Cabral *et al.*, 2011; Olsen y Hasan, 2012).

En la actualidad se están realizando estudios con el fin de sustituir la proteína de harina de pescado por proteínas más económicas de origen vegetal, principalmente cuando se trata del cultivo de peces marinos carnívoros. La intención de estas investigaciones es buscar sustituir parcial o totalmente la harina de pescado por proteína de origen vegetal, formulando dietas que no afecten la salud de los organismos, y que cubran los requerimientos nutricionales, con el fin de obtener buenos crecimientos y sobrevivencias elevadas (Hardy, 1999; Alami-Durante *et al.*, 2010; Silva-Carrillo *et al.*, 2012; Hosseini y Khajepour, 2013).

Considerando las especies de peces carnívoros que presentan potencial para cultivo comercial, cuentan con un grado de desarrollo experimental y que son cultivadas comercialmente, se encuentran *Salmo salar* (Refstie *et al.*, 1998; Hemre *et al.*, 2005; Mundheim *et al.*, 2004), *Oncorhynchus mykiss* (Collins *et al.*, 2012), *Huso huso* (Hosseini y Khajepour, 2013), *Gadus morhua* (Olsen *et al.*, 2007), *Lutjanus guttatus* (Silva-Carrillo *et al.*, 2012), *Ictalurus punctatus* (Peres *et al.*, 2003), *Lates calcarifer* (Tantikitti *et al.*, 2005), *Morone saxatilis* (Savolainen y Gatlin, 2010), *Solea senegalensis* (Cabral *et al.*, 2011) se ha logrado reemplazar en la dieta hasta

un 60 % de la harina de pescado por harinas vegetales sin comprometer el crecimiento y la salud de los organismos.

Dentro de las harinas que han sido estudiadas y consideradas aptas para reemplazar en un porcentaje o totalmente la harina de pescado en la dieta de organismos de cultivo se encuentran las provenientes de canola, algodón, maíz, papa, trigo y soya. Esto debido a que estas harinas se encuentran disponibles en el mercado, se pueden producir de manera sustentable y a un precio más económico (Glencross *et al.*, 2004; Mundheim *et al.*, 2004; Gatlin *et al.*, 2007; Hansen *et al.*, 2007; Barrows *et al.*, 2010).

En peces, una de las principales alternativas para sustituir la harina de pescado ha sido la harina de soya, por sus propiedades nutricionales y alto contenido de proteína cruda con un perfil de aminoácidos adecuado (Carter y Hauler, 2000; Torstensen *et al.*, 2008). Por lo anterior, la harina de soya es apta para la alimentación de peces herbívoros y omnívoros (Gao *et al.*, 2011). Sin embargo, el reemplazo de la harina de pescado en la dieta de peces carnívoros ha sido una tarea difícil, debido a la baja capacidad de absorción de su tracto digestivo, por la influencia negativa de sustancias anti-nutricionales presentes en la soya, y como consecuencia, al riesgo en el estado de salud de los organismos y su adecuado desarrollo (Barrows *et al.*, 2007; Skugor *et al.*, 2011).

En formulaciones que contienen harina de soya se han encontrado algunos compuestos bioactivos o factores anti-nutricionales presentes en las harinas vegetales, tales como los inhibidores de tripsina, carbohidratos insolubles, saponinas y algunas proteínas que afectan la respuesta inmune de los peces

carnívoros, que afectan la salud de los organismos. (Barrows *et al.*, 2007; Gatlin *et al.*, 2007; Weeks y Garling, 2010).

Para conocer el estado de salud de los organismos alimentados con dietas elaboradas con proteína de soya, existen diferentes indicadores que pueden ser utilizados para estimar los efectos de la calidad del dieta utilizada en la salud del organismo (Thrall *et al.*, 2006). Dentro de éstos se encuentran los estudios clínicos de la laboratorio, como la hematología y química sanguínea, y análisis histológicos y moleculares. Haciendo referencia a los dos primeros, el estudio de la hematología y bioquímica sanguínea es una herramienta que nos permite estudiar el tejido sanguíneo, debido a que es la sangre la que se encarga de procesos fisiológicos tales como: a) el transporte de oxígeno a todo el organismo a través de la hemoglobina contenida en los glóbulos rojos; b) del intercambio de nutrientes contenidos en el plasma sanguíneo como la glucosa, aminoácidos, proteínas plasmáticas (albumina y globulinas), lípidos y sales minerales procedentes del aparato digestivo, transportados por la sangre al hígado para su metabolismo y distribución posterior a todas las células del cuerpo. c) Asimismo, la sangre es la encargada del intercambio de productos de desecho del metabolismo celular para su transformación y/o eliminación para el mantenimiento de la homeostasis, de esta manera, la sangre intercambia el oxígeno por el dióxido de carbono desde todas las células del cuerpo, el qué, dentro de glóbulos rojos se transforma en bicarbonato y se transporta en el plasma hasta el aparato respiratorio, donde se disocia de nuevo, en los glóbulos rojos en CO₂ y H₂O, y éste finalmente es eliminado en la expiración. d) La sangre también transporta mensajeros químicos como las hormonas; e) la

sangre participa en el sistema inmunológico ya que transporta como respuesta a las lesiones o alteraciones que producen inflamación por causas diversas, a los glóbulos blancos e inmunoglobulinas, que son parte del sistema de defensa del cuerpo; f) la sangre también mantiene la homeostasis de los líquidos intra y extracelulares; g) participa en el mantenimiento del estado ácido-básico; h) como también participa en la coagulación de la sangre a través del transporte de las plaquetas y factores de coagulación (Stockham y Scott, 2008). Los análisis hematológicos nos permiten conocer el estado interno del organismo y observar si este presenta un desvío de la homeostasis y por lo tanto, del estado de salud de los organismos (Bastardo y Díaz, 2004; Glencross *et al.*, 2007; Thrall *et al.*, 2006).

El estudio de la sangre abarca el conocimiento de sus componentes y cualquier alteración fisiológica del estado normal de salud relacionada con ellos (Valenzuela *et al.*, 2003). La sangre está compuesta por dos estados, el sólido y el líquido. El primero corresponde al grupo de células de la sangre que son producidos en los órganos hematopoyéticos (eritrocitos, leucocitos, linfocitos, monocitos y trombocitos o plaquetas); el estado líquido está compuesto por agua (91%), proteínas (8%) y otros componentes (electrolitos, metabolitos, lípidos y hormonas). Los eritrocitos representan las principales células sanguíneas, el volumen que ocupan éstos en circulación es denominado hematocrito, considerado como el volumen del paquete celular. En peces estas células son diferenciadas por tener un núcleo de forma ovalada, posición central y ser producidos en órganos hematopoyéticos (riñón, el timo y el bazo) (Thrall *et al.*, 2006; Campbell *et al.*, 2007).

La proporción del volumen sanguíneo en peces es aproximadamente del 2 al 4 % del volumen corporal (Jaramillo-Schadebrodt, 2005).

Debido a que el presente estudio es uno de los primeros realizados en juveniles de totoaba para conocer el efecto de la sustitución de proteína de pescado por proteína de soya como fuente principal de proteína en la dieta, sobre la respuesta hematológica y de bioquímica sanguínea, se considera que los resultados obtenidos orientaran sobre cambios en la sangre y posibles alteraciones orgánicas o sistémicas que pudieran afectar a los peces, por lo que serán una aportación considerable en los estudios relacionados con la nutrición de esta especie.

2.0. ANTECEDENTES

2.1. ANTECEDENTES DE LA ESPECIE DE ESTUDIO.

Totoaba macdonaldi es el pez carnívoro más grande de la familia *Sciaenidae*, endémico del Golfo de California (Cisneros-Mata *et al.*, 1997), llega a alcanzar longitudes mayores de 2 metros y pesos de 135 kilogramos; su distribución abarca desde la desembocadura del Río Colorado hasta el Río Fuerte de Sinaloa y Mulege, Baja California Sur en México (Berdegué, 1955; Cannon, 1966).

La disminución poblacional reflejada en la baja de capturas de la especie, obligó a que las autoridades la anexaran en la lista de especies en peligro de extinción, encontrándose en veda total desde 1975, y por la Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies Silvestres desde 1976 (CITES, 2005, SEMARNAT-CONANP, 2007). Las principales causas que originaron estos eventos están ligadas a la sobreexplotación y la afectación del hábitat, principalmente por la

disminución del efluente del Río Colorado, que ocasionaron pérdidas en áreas de desove. Los esfuerzos por la recuperación del hábitat se iniciaron en 1994, tras el estudio de la reproducción de la especie en cautiverio, seguido por su repoblamiento con liberación de juveniles al medio natural (True *et al.*, 1997; Sandoval-Garibaldi, 2002). Actualmente se conoce el ciclo de vida y la biotecnia de cultivo para la especie (True, 2012).

Dentro del esfuerzo para la recuperación de totoaba, se encuentran los estudios realizados en la descripción del desarrollo embrionario (Morales, 1999); morfología del desarrollo larval (Sandoval-Garibaldi, 2002); desarrollo del tracto digestivo y actividad y expresión de enzimas digestivas en larvas y juveniles de esta especie (Galaviz, 2011). Además se han realizado estudios nutricionales de la especie, entre los más importantes destacan, la determinación de perfiles de ácidos grasos (López *et al.*, 2006), y niveles de alimentación (Solórzano, 2006). También se han realizado estudios hematológicos que describen el efecto de las dietas en la salud del pez por alimentación con distintos niveles de almidón y suplementadas con probiótico (Salcedo-Martín, 2011), la respuesta del metabolismo intermediario, sistema antioxidante, respuesta hematológica y bioquímica sanguínea e histología hepática de juveniles ante la inclusión de proteína de soya y almidón en dietas suplementadas con taurina (Tesis, Bañuelos-Vargas, 2014).

2.2. HEMATOLOGÍA EN PECES

El estudio de los requerimientos nutricionales de los organismos de cultivo ha servido para formular dietas que se asemejen a los hábitos de alimentación obtenidos en el medio natural, sin embargo, con el fin de encontrar mejores costos

de producción en cultivo de peces, las dietas son modificadas de tal manera que en ocasiones la capacidad de los organismos para asimilar el alimento son negativas debido a las características de los ingredientes que componen a la dieta y la constitución y fisiología específica de las especies del sistema digestivo, lo que se refleja en una mala nutrición y la presencia de condiciones de salud inadecuadas para una producción eficaz, donde lo que se espera es obtener crecimientos elevados y altas sobrevivencias. Para evaluar este impacto, es necesario estudiar las condiciones de salud de los organismos, una de las herramientas para hacerlo es la respuesta en hematología y bioquímica sanguínea (Thrall *et al.*, 2006).

Los análisis hematológicos y de bioquímica sanguínea permiten obtener resultados de manera rápida de efectos provenientes por alteraciones en las condiciones fisiológicas o metabólicas que afectan la salud de los peces debido a las condiciones nutricionales, ambientales, fotoperiodo y variaciones por la edad de los organismos. Es una herramienta utilizada como indicador de salud tanto de organismos de hábitats silvestres (Atencio-García *et al.*, 2007), como reproductores, alevines y juveniles cultivados (Bastardo y Díaz, 2004; De Pedro *et al.*, 2005; Centeno *et al.*, 2007). A partir de estos indicadores se puede evaluar la condición fisiológica de los peces por impacto o debido a las dietas utilizadas en la alimentación de los organismos (Glencross *et al.*, 2007).

Con base en esto, se han realizado estudios hematológicos en la nutrición de tilapia híbrida, tilapia nilotica y bagre de canal, donde las dietas contenían como fuente de proteína, harina de algodón, como resultado los investigadores observaron una disminución en el contenido de hemoglobina y del hematocrito, lo

que fue un reflejo de la toxicidad de los compuestos polifenoles presentes en la harina de algodón (Herman, 1970; Mbahinzireki *et al.*, 2001; Yue y Zhou, 2008). En otro estudio en *Notemigonus crysoleucas*, se reportó bajo contenido de hematocrito, hemoglobina y linfocitos, estos signos clínicos se atribuyeron a deficiencias de vitaminas (α -tocoferol) en la dieta lo que afectó la supervivencia de los peces en cultivo (Chen *et al.*, 2004). Asimismo, en estudios en peces carnívoros de agua dulce como en la lobina negra (*Micropterus salmonides*) la respuesta inmune no-específica se afectó al sustituir en la dieta la fuente de proteína y lípidos (Subhadra *et al.*, 2006). Por el contrario, el reemplazo del aceite de pescado por una fuente de lípidos proveniente de aceites vegetales no reportó efectos sobre la respuesta hematológica y supervivencia de *Oncorhynchus kisutch* (Twibell *et al.*, 2012).

También se ha reportado el efecto que tuvieron la cantidad y niveles de la proteína digestible en dietas suplementadas con probiótico, sobre las variables hematológicas de juveniles de corvina blanca (*A. nobilis*), en este estudio se observó un aumento en los niveles de hemoglobina al disminuir los contenidos de proteína digestible (Bañuelos-Vargas, 2009).

En otros estudios reportados en peces carnívoros, los incrementos de niveles de glucosa en la sangre fueron relacionados con la disfuncionalidad metabólica del hígado, por el efecto de los niveles elevados de carbohidratos en la dieta, además de una intolerancia a la glucosa. En mamíferos esto último se refiere a la incapacidad del organismo para hacer uso de una alta carga de glucosa, la cual se manifiesta clínicamente con una hiperglicemia persistente lo que se ve reflejado en

un crecimiento reducido (Hilton *et al.*, 1987; Wilson, 1994; Moon, 2001; Hemre *et al.*, 2002).

En juveniles de *T. macdonaldi* alimentada con dietas elaboradas con dos niveles (30 y 60%) de proteína de soya como nutrientes para reemplazar la fuente de proteína animal (harina de pescado) con y sin suplemento de taurina, se observó, que la respuesta hematológica y bioquímica sanguínea indicó que en los peces alimentados con alto nivel de proteína de soya, aunque la respuesta mejoró con la suplementación de taurina, ésta no fue suficiente para prevenir el desarrollo de anemia hipocrómica, con disminución significativa de la concentración de hemoglobina en los glóbulos rojos. El mismo patrón se observó en el perfil plasmático de proteínas (albúmina, globulinas y razón albumina: globulinas) donde los peces alimentados con alto contenido de soya desarrollaron una respuesta más severa de hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, aunque la sustitución de taurina mejoró levemente esta condición relacionada con inflamación intestinal por daño relacionado con los antinutrientes contenidos en la harina de soya. También se observó un aumento del conteo de glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas en los peces alimentados con las dietas con soya, lo que indicó deshidratación en los peces, sin embargo la adición de taurina mejoró esta condición en los peces alimentados con ambos niveles de soya. Por los resultados, los autores recomiendan realizar más estudios para determinar el contenido adecuado de soya y de suplementación de taurina para el crecimiento y desarrollo saludable en el maricultivo de totoaba (Bañuelos Vargas, 2014).

Los parámetros hematológicos y bioquímicos pueden cambiar de acuerdo a las condiciones ambientales. De Pedro *et al.* (2005), encontraron que en la tenca (*Tinca tinca*) se presentaron variaciones diarias y estacionales, relacionadas a diversas situaciones ambientales y fisiológicas que suceden durante el año, como son eventos de reproducción, parámetros fisicoquímicos del agua y disponibilidad de alimento. Es necesario tomar en cuenta estos fenómenos al utilizar esta herramienta para evaluar el estado de salud de los organismos.

Debido a que la hematología ha tenido mayor aplicación en especies de peces de agua dulce, mientras que en peces marinos existe poca información con respecto a estos estudios, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del contenido de proteína de soya en la dieta y su efecto sobre la hematología y química sanguínea en juveniles de *Totoaba macdonaldi* bajo condiciones de cultivo.

3.0. HIPÓTESIS

La sustitución parcial de la proteína de pescado por proteína de soya en las dietas para juveniles de *Totoaba macdonaldi* cultivados bajo condiciones controladas, tendrá un efecto significativo en la hematología y química sanguínea de los organismos.

4.0. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta hematológica y de química sanguínea en juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con diferentes concentraciones de proteína de soya en las dietas.

4.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.** Determinar la cantidad de glóbulos rojos, valores de hematocrito, hemoglobina y los Índices Wintrobe en la sangre de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con diferentes concentraciones de proteína de soya en las dietas.
- 2.** Medir la concentración plasmática de proteína, glucosa y albúmina, la relación albúmina: globulinas del plasma de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con diferentes concentraciones de proteína de soya en las dietas.

5.0. METODOLOGÍA

5.1 DIETAS EXPERIMENTALES

Las dietas experimentales fueron producidas a partir de dos fuentes de proteína, harina de pescado y proteína de soya, la elaboración se realizó en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la Facultad de Ciencias Marinas (FCM) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC).

Se formularon ocho dietas isoproteicas e isoenergéticas variando la sustitución de harina de pescado por harina de soya con un 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 y 100 %, de reemplazo en proporción de la fuente de pescado, etiquetadas como DC, SP15, SP30, SP45, SP60, SP75, SP90 y SP100, respectivamente.

Los ingredientes secos (harina de pescado y krill, proteína de soya, cloruro de colina, vitaminas, minerales, ácido ascórbico) se homogenizaron en una mezcladora marca HOBART (modelo A 2000) y se añadió aceite de pescado con vitamina E para prevenir los efectos de la rancidez oxidativa de los ingredientes, posteriormente se agregaron el almidón cocido y la gelatina disuelta en agua caliente de forma líquida para obtener pellets, estos se secaron en una estufa de convección a 70°C por 24 horas, hasta obtener una humedad inferior a 5% y los pellets estuvieran completamente secos para ser suministrados a los organismos en cultivo. Terminada la elaboración de las dietas se almacenaron en bolsas de plástico impermeables a una temperatura de -20°C hasta ser utilizadas.

Tabla I. Composición proximal de las dietas experimentales utilizadas para juveniles de *Totoaba macdonaldi*, variando los niveles de proteína de soya (g 100⁻¹ g de muestra).

Dietas	Proteína	Lípidos	Ceniza	ELN	Energía (kJ /g)
DC	49.1	12.8	7.5	5.8	19.7
SP15	49.4	11.9	7.1	9.4	19.0
SP30	48.1	12.3	6.7	12.2	18.6
SP45	47.9	12.4	6.7	13.2	18.6
SP60	49.1	12.0	6.3	14.5	18.4
SP75	49.4	11.9	5.6	15.6	18.4
SP90	48.6	11.8	5.2	16.7	18.3
SP100	47.7	11.8	4.8	22.8	17.4

5.2. OBTENCIÓN DE ORGANISMOS

Los organismos se obtuvieron del laboratorio UBP de la FCM de la UABC, donde se seleccionaron un total de 480 organismos de 50.0 ± 3.0 g para la realización del experimento.

5.3. SISTEMA DE CULTIVO EXPERIMENTAL

Se trabajó en un sistema de cultivo semi-cerrado “Guelph” con 24 tanques con agua de mar a una temperatura de 23 ±1°C y un recambio de 50% diario, abastecido con agua de mar filtrada hasta 5 micras, filtro biológico y luz ultravioleta utilizados para mantener la calidad de agua, las condiciones de fotoperiodo fueron de 12 horas por 12 horas de oscuridad (12:12, L: O) que se regularon de manera automática. En este sistema se realizó el bioensayo de alimentación por triplicado con juveniles de *T. macdonaldi* por un período de 12 semanas, realizando registros diarios de calidad del agua (amonio, nitritos, nitratos, oxígeno, pH, y temperatura) y la alimentación fue proporcionada dos veces al día (8:00 y 16:00, horas) hasta saciedad aparente.

5.4. MUESTREO DE ORGANISMOS

El muestreo de los organismos se realizó al inicio y final del experimento donde se obtuvieron biometrías corporales de longitud (cm) y peso (g) en los organismos. Para facilitar el manejo de los organismos se anestesiaron con aceite de clavo a una concentración de 150 mg/l diluido en etanol a razón de 1:9, respectivamente (Agüero-Grande, 2008).

5.5. MUESTREO DE SANGRE

Para la biometría hemática se extrajo sangre a través de una punción cardíaca de una muestra de ocho peces obtenidos al azar de cada réplica. La sangre se colectó con jeringas con 0.1 ml con solución anticoagulante EDTA al 5% (3 mg ml⁻¹ de sangre) para la determinación de glóbulos rojos (Gr), hematocrito (Ht) y hemoglobina (Hb) (Blaxhall and Daisley, 1973, García *et al.*, 2007). Se obtuvo el plasma sanguíneo mediante centrifugación a 12,000 rpm x 5 min a 4°C (Atencio-García *et al.*, 2007), y se almacenó a 4°C hasta su uso (después del análisis de la línea roja) para determinar la concentración de proteína total (Pt), albúmina (Al) y glucosa (Gl).

5.6. ESTUDIOS DE HEMATOLÓGÍA Y QUÍMICA SANGUÍNEA

Se realizó el análisis hematológico al final del experimento, se determinó el hematocrito (Ht), conteo de glóbulos rojos (Gr), hemoglobina (Hb) de la sangre y del plasma la proteína total (Pt), albúmina (Alb) glucosa (Glu) globulinas totales (Glb) y razón Alb:Glb, del plasma.

El hematocrito (Ht, %) se calculó por el método de micro hematocrito a través de la centrifugación de la sangre a 10,000 rpm por 10 minutos y el lector para tubos capilares de hematocrito *Spiracrit Lancer*.

El conteo de glóbulos rojos (Gr, cel ml⁻¹) se realizó mediante dilución de 20µl de sangre en solución Dacie's para peces, a razón de 1:50 respectivamente (De Pedro *et al.*, 2005), posteriormente se tomaron fotografías de las celdillas de la cámara de Neubauer a través de observaciones microscópicas de 100X, para su respectivo conteo.

Los Índices Wintrobe, media del volumen celular (MVC), media de hemoglobina corpuscular (MHC) y media de concentración de hemoglobina (MCHC), se calcularon de manera indirecta de acuerdo a los resultados de conteo de globulos rojos (Gr), concentración de hemoglobina (Hb) y porcentaje de hematocrito (Ht), las siguientes expresiones fueron utilizadas para su cálculo:

Media del volumen celular (MVC)

$$MVC (fL) = \frac{(Ht)(10)}{Gr}$$

Media de hemoglobina corpuscular (MHC)

$$MHC (pg) = \frac{(Hb)(10)}{Gr}$$

Media de concentración de hemoglobina (MCHC)

$$MCHC (g dL^{-1}) = \frac{(Hb)(100)}{Ht}$$

El análisis de hemoglobina (Hb, g dl⁻¹), proteína total (Pt, g dl⁻¹), y glucosa (Glu, mg dl⁻¹) se determinaron de acuerdo a la metodología descrita en los Kits de *Pointe Scientific, Inc.*

Las globulinas totales (Glb) se determinaron mediante la siguiente expresión:

$$\text{Glb (g/dl)} = \frac{\text{Pt (}\frac{\text{g}}{\text{dl}}\text{)}}{\text{Al (}\frac{\text{g}}{\text{dl}}\text{)}}$$

La razón albumina (Al): globulinas (Glb) del plasma fue determinada de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Al: Glb} = \left(\frac{\text{Alb}}{\text{Glb}} \right)$$

5.7. PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

Se obtuvieron valores de sobrevivencia, parámetros de crecimiento (tasa de crecimiento, índice de crecimiento diario) y eficiencia de la alimentación (eficiencia de conversión alimenticia y razón de eficiencia proteica).

Sobrevivencia (S).

$$\% S = \frac{\# \text{ Peces finales}}{\# \text{ Peces iniciales}} * 100$$

Ingestión diaria de alimento (ID)

$$ID = \frac{\text{promedio de alimento diario consumido}}{\# \text{ de peces}}$$

Índice de Crecimiento Diario (ICD).

$$ICD = \left[\left(\frac{Pf^{\frac{1}{3}} - Pi^{\frac{1}{3}}}{\text{número de días}} \right) \right] * 100$$

Índice Hepatosomático (IHS)

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

Índice Viscerosomático (IVS)

$$IVS = \frac{\text{peso de víscera (g)} * 100}{\text{peso del pez (g)}}$$

Tasa de conversión alimenticia (TCA)

$$TCA = \frac{\text{alimento seco consumido (g)}}{\text{peso ganado (g)}}$$

5.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados en los parámetros de crecimiento, hematología y química sanguínea se compararon mediante la prueba ANOVA de una vía utilizando el Software SigmaStat para Windows Versión 3.5.

Las pruebas de normalidad en los tratamientos se realizaron mediante el Test de Kolmogorov-Smirnov, y la homogeneidad de varianzas mediante el estadístico de Levene. Todas aquellas variables donde se cumplió la normalidad o/u homocedasticidad fueron analizados como datos paramétricos por el método de Tukey para determinar las diferencias significativas, aquellas variables que no cumplieron con los supuestos se analizaron con la prueba de Kruskal Wallis y las diferencias entre grupos con el método de Dunn`s, la diferencia de medias fue significativa a un nivel de $\alpha = 0.05$.

6.0. RESULTADOS

6.1. Parámetros de Crecimiento y Supervivencia

La supervivencia en el experimento fue mayor a $97 \pm 5.8 \%$ no presentó diferencias significativas ($P= 0.866$) entre los tratamientos al finalizar el experimento. Los parámetros de peso (PI) y longitud (LI) al inicio del experimento en juveniles de *T. macdonaldi* se encontraron entre 49 ± 3.6 a 51 ± 4.4 y 17.0 ± 0.5 a 17.3 ± 0.5 , respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos siendo los valores de significancia de $P=0.211$ y $P=0.087$, respectivamente, El peso ganado y longitud ganada presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tabla I).

Tabla II.- Resultados de parámetros biológicos y de crecimiento obtenidos con juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con distintos niveles de inclusión de proteína soya en la dieta.

	S	PI	PG	IH	IV	ID	TCA
DC	100 ± 0.00	49 ± 3.57	86 ± 16.00^{bc}	1.1 ± 0.23	3.3 ± 0.20^{abc}	1.2 ± 0.18^{ab}	0.8 ± 0.01^b
SP15	98 ± 2.89	50 ± 3.79	94 ± 14.06^a	0.9 ± 0.24	2.9 ± 0.29^c	1.2 ± 0.09^a	0.8 ± 0.03^b
SP30	100 ± 0.00	51 ± 4.18	93 ± 13.84^{ab}	0.9 ± 0.18	2.9 ± 0.16^c	1.2 ± 0.12^a	0.8 ± 0.01^b
SP45	98 ± 3.54	50 ± 4.14	84 ± 14.36^c	0.9 ± 0.13	3.1 ± 0.23^{bc}	1.2 ± 0.06^{ab}	0.8 ± 0.02^b
SP60	98 ± 2.89	50 ± 3.92	71 ± 11.25^d	1.0 ± 0.18	3.2 ± 0.53^{abc}	1.1 ± 0.09^{abc}	0.9 ± 0.01^{ab}
SP75	97 ± 5.77	51 ± 4.35	73 ± 12.37^d	0.9 ± 0.16	3.2 ± 0.15^{abc}	1.1 ± 0.10^{abc}	0.9 ± 0.09^{ab}
SP90	98 ± 2.89	50 ± 3.80	57 ± 15.21^e	1.1 ± 0.35	3.6 ± 0.39^{ab}	0.9 ± 0.05^{bc}	1.0 ± 0.06^a
SP100	100 ± 0.00	51 ± 3.97	53 ± 7.13^e	1.0 ± 0.23	3.8 ± 0.41^a	0.8 ± 0.02^c	0.9 ± 0.05^{ab}

Resultados media $\pm$ desviación estándar. **S:** supervivencia (%), **PI:** peso inicial (g), **PG:** peso ganado (g), **IH:** Índice Hepatosomático, **IV:** Índice Viscerosomático, **ID:** ingesta diaria y **TCA:** tasa de conversión alimenticia. Superíndice en la misma columna indica diferencias significativas donde $a>b>c>d>e$.

El peso ganado vario de 94 ± 14.06 a 53 ± 7.13 g, observándose que la dieta SP15 fue estadísticamente diferente ($P < 0.05$) con el resto de los tratamientos, excepto con la dieta SP30 ($P > 0.05$).

La ingesta diaria (ID) en los peces alimentados con las dietas SP15 Y SP30 presento diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a los tratamientos SP90 Y SP100, sin presentar diferencias significativas con el resto de las dietas. La Tasa de Conversión Alimenticia (TCA) del tratamiento SP90 fue estadísticamente mayor con respecto a las dietas DC, SP15, SP30, SP45 y sin diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos (Tabla 2).

El índice Hepatosomático (IH) de los peces en cada uno de los diferentes tratamientos no presento diferencias significativas ($P > 0.05$), mientras que el índice Viscerosomático (IV) de los peces de los diferentes tratamientos presento diferencias significativas ($P < 0.05$). Los peces del tratamiento SP100 presentaron un IV mayor con diferencias significativas ($P > 0.05$) respecto a la dieta SP15, SP30 y SP45, sin embargo, no mostraron diferencias significativas con respecto a la dieta DC y el resto de los tratamientos (Tabla 2).

6.2. HEMATOLOGÍA

Los resultados de biometría hemática de la línea roja (Gr, Ht, Hb) e Índices Wintrobe (MVC, CHCM y MCH) se muestran en la Tabla III.

Tabla III.- Variables hematológicas de la línea roja en juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con distintos niveles de inclusión de proteína soya en la dieta.

	Gr	Ht	Hb	MHC	MVC	MCHC
DC	2.99 ± 0.25 ^a	22.1 ± 1.37 ^a	7.1 ± 0.53 ^{abc}	23.9 ± 1.72 ^{abc}	72.9 ± 5.44	32.0 ± 1.83 ^d
SP15	2.87 ± 0.41 ^{ab}	20.4 ± 1.33 ^{ab}	7.4 ± 0.82 ^{ab}	25.8 ± 2.73 ^{ab}	69.7 ± 7.76	37.0 ± 1.39 ^a
SP30	2.78 ± 0.24 ^{abc}	20.3 ± 1.71 ^{ab}	7.6 ± 0.61 ^a	27.4 ± 2.25 ^a	73.3 ± 8.60	37.1 ± 2.42 ^a
SP45	2.74 ± 0.38 ^{abcd}	19.7 ± 1.68 ^{bc}	6.8 ± 0.80 ^{bcd}	25.5 ± 2.85 ^b	73.1 ± 5.95	34.9 ± 2.48 ^{abc}
SP60	2.68 ± 0.21 ^{abcd}	19.1 ± 1.37 ^{bc}	6.5 ± 0.81 ^{cde}	24.8 ± 1.45 ^{bc}	71.1 ± 4.48	35.1 ± 2.24 ^{abc}
SP70	2.66 ± 0.30 ^{bcd}	18.4 ± 1.94 ^{cd}	6.4 ± 0.71 ^{cde}	24.3 ± 2.71 ^{bc}	69.6 ± 4.12	35.4 ± 2.41 ^{ab}
SP90	2.44 ± 0.25 ^d	16.7 ± 2.08 ^d	5.8 ± 0.66 ^e	22.6 ± 2.08 ^c	68.9 ± 6.17	32.9 ± 1.63 ^{cd}
SP100	2.50 ± 0.38 ^{cd}	17.1 ± 2.61 ^d	6.2 ± 0.99 ^{de}	24.7 ± 1.52 ^{bc}	71.1 ± 6.39	34.7 ± 2.01 ^{bc}
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.280	<0.001

Resultados media ± desviación estándar. **Gr**: glóbulos rojos (cel ml⁻¹) x 10⁶, **Ht**: hematocrito %, **Hb**: hemoglobina g dL⁻¹, **MCHC**: media de concentración de hemoglobina g dL⁻¹, **MHC**: media de hemoglobina corpuscular pg y **MVC**: media del volumen celular fL. Superíndice en la misma columna indica diferencias significativas donde a>b>c>d>e.

6.2.1. Glóbulos Rojos y Hematocrito

El conteo de glóbulos rojos (eritrocitos) mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, la DC fue significativamente mayor (P<0.05) a los tratamientos SP70, SP90 y SP100. El intervalo observado de eritrocitos en las muestras de los diferentes tratamientos oscilo entre 2.44±0.25 y 2.99±0.25 X 10⁶ células por mililitro. El porcentaje de hematocrito vario entre los tratamientos de 22.1 a 16.7%. La dieta DC no mostro diferencias significativas (P= 0.176) respecto a los tratamientos SP15, SP30 y SP45, pero si fue significativamente diferente (P<0.05) a los tratamientos SP60, SP75, SP90 y SP100, sin embargo los tratamientos SP60 Y SP75 no mostraron diferencias significativas (P=.095) al resto de los tratamientos que contenían proteína de soya en la dieta (Tabla III).

6.2.2. Hemoglobina

La concentración de hemoglobina en sangre de los peces alimentados con la dieta SP30 fue estadísticamente mayor ($P < 0.05$) a los valores encontrados en los peces que se alimentaron con las dietas SP45, SP60, SP75, SP90 y SP100. Los organismos que fueron alimentados con la dieta control (DC) manifestaron diferencias significativas ($P < 0.05$) con los alimentados con SP90 y SP100 (Tabla III).

6.2.3. Índices Wintrobe

Los valores en el volumen corpuscular medio de eritrocitos (MVC) no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P = 0.28$). La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) fue significativamente menor ($P < 0.05$) en peces alimentados con la dieta DC en comparación con los alimentados con las dietas SP15, SP30, SP45, SP60, SP75 y SP100, pero no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) con respecto a la dieta SP90. La hemoglobina corpuscular media (MCH) de los peces alimentados con la dieta SP30 fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que la dieta SP45, SP60, SP75, SP90 Y SP100, sin presentar diferencias significativas ($P > 0.05$) respecto a los tratamientos DC y SP15.

6.3. QUÍMICA SANGUÍNEA

Los resultados de la biometría en los niveles de química sanguínea (Glu, Pt, Alb, Glb y Alb: Glb) del plasma de juveniles de *T. macdonaldi* se muestran en la tabla IV.

Tabla IV.- Química plasmática de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con distintos niveles de inclusión de proteína de soya en la dieta.

	Glu	Pt	Alb	Alb:Glb
DC	43.5 ± 6.93 ^{bcd}	2.3 ± 0.17 ^a	0.7 ± 0.07 ^{abc}	0.44 ± 0.06 ^c
SP15	51.2 ± 10.20 ^{abc}	2.0 ± 0.23 ^b	0.6 ± 0.10 ^{cd}	0.44 ± 0.08 ^c
SP30	36.9 ± 7.15 ^{de}	2.0 ± 0.23 ^{bc}	0.8 ± 0.08 ^{ab}	0.64 ± 0.12 ^{ab}
SP45	35.0 ± 7.46 ^e	2.1 ± 0.20 ^{ab}	0.8 ± 0.06 ^a	0.59 ± 0.06 ^b
SP60	51.5 ± 8.37 ^{ab}	1.7 ± 0.24 ^{cd}	0.7 ± 0.09 ^{bc}	0.67 ± 0.07 ^{ab}
SP70	56.6 ± 8.87 ^a	1.6 ± 0.28 ^d	0.7 ± 0.09 ^c	0.71 ± 0.14 ^a
SP90	46.0 ± 6.79 ^{bc}	1.5 ± 0.30 ^d	0.5 ± 0.07 ^e	0.44 ± 0.12 ^c
SP100	43.2 ± 7.38 ^{cde}	1.7 ± 0.26 ^{cd}	0.6 ± 0.07 ^d	0.49 ± 0.06 ^c
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Resultados media ± desviación estándar. **Glu**: glucosa (mg dL⁻¹), **Pt**: proteína (g dL⁻¹), **Alb**: albumina (g dL⁻¹), y relación albumina / globulinas (**Alb:Glb**). Superíndices indican diferencias significativas con P<0.05 donde a>b>c>d>e.

6.3.1. Glucosa

El contenido de glucosa en plasma de peces alimentados con la dieta SP75 presento una concentración significativamente mayor (P<0.05) en relación a los peces de los tratamientos SP30, SP45, SP90 y SP100. Los peces que se alimentaron con SP45 contenían niveles de glucosa significativamente menores (P<0.05) respecto a la dieta DC, SP15, SP60, SP75 y SP90.

6.3.2. Proteína

La concentración de proteína en plasma fue mayor en peces alimentados con la dieta control DC, las diferencias fueron estadísticamente significativas (P<0.05) respecto a las dietas SP15, SP30, SP60, SP75, SP90 y SP100, pero no presento diferencias significativas con la dieta SP45(P>0.05). La concentración de proteína del plasma fue menor en peces alimentados con la dieta SP90 (Tabla IV).

6.3.3. Albumina

El contenido de albumina en plasma de los peces alimentados con la dieta SP45 fue significativamente mayor ($P<0.05$) que los peces alimentados con las dietas SP15, SP60, SP75, SP90 y SP100. La menor concentración de albumina se encontró en la dieta SP90 y SP100, presentando la menor concentración la dieta SP90 con diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) respecto a DC, SP15, SP30, SP45, SP60, SP75 y SP100. La concentración de albumina en DC presento diferencias significativas ($P<0.05$) respecto a los peces alimentados con las dietas SP90 y SP100 (Tabla IV).

6.3.4. Globulinas

El contenido de globulinas se encontró entre 1 y 1.6 gramos por decilitro en los tratamientos. La dieta DC presentó el mayor valor con diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) respecto a los peces que fueron alimentados con las dietas SP30, SP45, SP60, SP75, SP90 y SP100 (Tabla IV).

6.3.5. Relación Albumina: Globulina (Alb: Glb)

Los peces alimentados con las dietas SP75 mostraron una relación Alb: Glb significativamente mayor ($P<0.05$) a la encontrada en los tratamientos DC, SP15, SP45, SP90 y SP100, sin diferencias significativas al resto de los tratamientos (SP30 y SP60). Los peces alimentados con la dieta SP15 mostraron la mayor relación (Tabla IV).

7.0. DISCUSIONES

7.1. Parámetros de Crecimiento

En el presente estudio de tesis, juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con proteína vegetal como reemplazo de la harina de pescado en la dieta mostraron efecto sobre los parámetros de crecimiento. El peso ganado disminuyó conforme aumento la fuente de proteína vegetal en la dieta, el efecto empezó a ser pronunciado cuando los niveles de proteína de soya fueron mayores a un 30 %. De acuerdo a Silva-Carrillo *et al.* (2012), una sustitución arriba del 40 % de harina de pescado por proteína de origen vegetal en la dieta mostró efectos en el crecimiento, sobrevivencia y consumo del alimento en juveniles pargo lunarejo *L. guttatus*. Esto pudo deberse a que un 40 % de harina de soya en la dieta disminuye la palatabilidad y atractabilidad por lo cual no propicio el consumo del alimento (Silva-Carrillo *et al.*, 2012).

En el presente estudio el crecimiento en peso fue mayor cuando las dietas que contenían inclusión de proteína de soya de 15 y 30 % respecto al resto de los tratamientos y la dieta DC, se ha reportado para especies carnívoras que niveles menores a 40 % de proteína de soya en la dieta no alteran el crecimiento en los organismos como se observó en juveniles de *H. hippoglossus*, donde sustituyeron el 22 % de concentrado de proteína de soya por proteína de pescado y el crecimiento no se vio afectado (Berge *et al.*, 1999). Mundheim *et al.* (2004) encontraron una disminución significativa en el crecimiento respecto al peso ganado de juveniles de salmón del atlántico (*S. salar*) al disminuir la harina de pescado como fuente de proteína (85.1%, 68.6%, 51.9% y 34.7%) por proteínas de harina de soya

y gluten de maíz. Los resultados del presente estudio coinciden con otros autores, donde los niveles bajos de soya en la dieta (30%) no alteran el crecimiento y se observa una mejora en ganancia de peso de los peces (Berge *et al.*, 1999; Refstie *et al.*, 2001). Además, la inclusión elevada de proteína de soya en las dietas, en este estudio, ocasionó una disminución de la ingesta diaria de alimento (ID) y aumento de la tasa de conversión alimenticia (TCA), que puede estar relacionado con la reducción de la utilización del alimento, disminución del apetito y reducción del crecimiento. De acuerdo a Olsen *et al.* (2007), esto puede ser consecuencia de la alteración en la morfología intestinal, ocasionado por los niveles altos de harina de soya que causa la condición de enteritis en la parte distal del tracto gastrointestinal. Además el bajo crecimiento, la baja digestibilidad proteica, y las deficiencias de aminoácidos esenciales en la dieta para peces marinos carnívoros, se ha atribuido a la presencia de sustancias anti nutricionales encontradas en la harina de soya u otras formulaciones que reemplazan la harina de pescado por harinas de fuentes vegetales (Refstie *et al.*, 1998; Chong *et al.*, 2003; Peres *et al.*, 2003; Tantikitti *et al.*, 2005).

El índice hepatosomático de los peces en el presente estudio no fue afectado por los niveles de inclusión de proteína de soya en la dieta, lo cual coincide con otros estudios de peces carnívoros como *Hippoglossus hippoglossus*) y *S. salar*, donde el reemplazo de la harina de pescado como fuente proteica fue sustituido por productos de soya en la dieta (Berge *et al.*, 1999; Mundheim *et al.*, 2004; Hemre *et al.*, 2005).

7.2. Hematología y Química sanguínea.

La alimentación con diferentes niveles de sustitución de proteína de pescado por fuentes vegetales en juveniles de *T. macdonaldi* realizado durante ocho semanas reflejó un cambio en las variables de hematología y química sanguínea, este trabajo corresponde a los primeros estudios hematológicos de la especie que contribuirá en futuras investigaciones. Otros estudios realizados en especies de peces marinos han mostrado la disminución de glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina y niveles altos de glucosa cuando se utilizan proteína de soya en las dietas (Hosseini y Khajepour, 2013). Sin embargo, en otras especies marinas se ha observado que los parámetros hematológicos y química sanguínea no presentan diferencias significativas al sustituir la fuente de proteína de la dieta con inclusiones elevadas de productos vegetales (Hemre *et al.*, 2005; Olsen *et al.*, 2007).

7.2.1. Glóbulos rojos, Hematocrito y Hemoglobina

Los resultados del conteo de eritrocitos, porcentaje de hematocrito y concentración de hemoglobina, en juveniles de *T. macdonaldi*, mostraron una tendencia negativa conforme aumentaba la cantidad de proteína vegetal en la dieta, de hecho, todos los valores fueron disminuyendo conforme aumentaba en la dieta la sustitución de proteína de soya. Sin embargo, inexplicablemente el efecto fue levemente más marcado en los peces alimentados con SP90 que en los peces con SP100. De acuerdo a De Pedro *et al.* (2004) el aumento en los índices de Gr, Ht y Hb, son producidos por la demanda de oxígeno debido a un mecanismo de adaptación de los peces, que aumenta proporcionalmente por la actividad metabólica, por lo anterior es posible que en el presente estudio la actividad

metabólica disminuyó de manera proporcional a la inclusión de proteína vegetal en la dieta. En estudios previos en totoaba, se reportó que la sustitución de harina de pescado por harina de soya hasta por 60% disminuyó significativamente la actividad de las enzimas clave del catabolismo de amino ácidos y del metabolismo en la gluconeogénesis, lo que se relacionó, igual que en este estudio, a la disminución de la ingestión de alimento diario (Bañuelos Vargas *et al.*, 2014). Por lo que los resultados de este estudio, consistentes con los de Bañuelos Vargas *et al.* (2014), sugieren que totoaba al ser alimentada con mayores cantidades de 30% de sustitución de harina de pescado por harina de soya, pudiera encontrarse en un estado metabólico desfavorable y por lo tanto sus necesidades de Gr circulantes, en consecuencia el Ht y aporte de oxígeno (Hb) a la vez verse disminuidos. Además, Zhou *et al.* (2005) mencionan que Gr y Hb están relacionados al sistema inmune no específico de los peces y los valores altos son reflejo de un buen estado de salud. En el presente estudio los juveniles de *T. macdonaldi* mostraron conteos más altos (conteo de eritrocitos, hematocrito, hemoglobina) en aquellos tratamientos donde la sustitución de proteína de soya en la dieta fue menor al 30%.

Por otro lado, este efecto de la disminución de los parámetros sanguíneos ha sido atribuido a la proteína de soya contenida en la dieta, debido a la presencia de factores anti nutricionales, principalmente por inhibidores de tripsina, enzima clave para la digestión de las proteínas en el intestino. La disminución del hematocrito y hemoglobina también se ha observado en vertebrados superiores por Olaleye *et al.* (1999); los autores señalan que la dieta afecta de manera distinta debido a los efectos que se producen al momento de utilizar los métodos de elaboración y

procesamiento de la harina de soya, ya que un inadecuado tiempo de tratamiento térmico, no logra la inactivación de los inhibidores enzimáticos de proteasas como tripsina lo que repercutiría en la digestión de los nutrientes. Hosseini y Khajepour (2013) reportaron una disminución del hematocrito en el esturión beluga, *Huso huso*, al ser alimentado con dietas isoprotéicas e isoenergéticas que contenían proteína de soya de manera parcial hasta un 50%. Los niveles de hematocrito más bajos se observaron en los peces alimentados con la inclusión de proteína de soya en la dieta del 50 %, además, el contenido de glóbulos rojos también fue afectado significativamente por las dietas utilizadas, lo cual coincide con los resultados en el presente estudio y las tendencia en el contenido de Gr y hematocrito.

Salcedo (2011), reportó que al aumentar los niveles de almidón en la dieta para juveniles de *T. macdonaldi*, la cantidad de eritrocitos también aumentó, lo cual se vio reflejado en el estado de salud de los organismos. Asimismo, en juveniles de corvina blanca (*A. nobilis*) especie de la misma familia *Scianidae* de totoaba, el conteo de eritrocitos y por ende el porcentaje de hematocrito incrementaron en los peces al ser alimentados con dietas que contenían 22 % de carbohidratos, diferentes niveles de proteína digestible (44, 40, 34 y 29 %) y adicionada con un probiótico (Bañuelos Vargas, 2009). En otro estudio con juveniles de corvina blanca (*A. nobilis*), Vizcaíno Pérez (2011), reportó que los niveles de los parámetros sanguíneos de la línea roja no fueron afectados al sustituir el 50 % de lípidos totales de la dieta con fuentes vegetales (maíz y linaza). En el presente estudio, los niveles bajos de eritrocitos y hematocritos fueron encontrados en las dietas que contenían mayor nivel de proteína de soya en sustitución de la harina de pescado, lo cual

podría constatar que la dieta y su contenido puede afectar de manera contundente la respuesta hematológica de los peces, y que el estudio de los componentes de la sangre en respuesta a las diferentes condiciones de alimentación, puede ser un indicador valioso para monitorear la salud de los peces bajo diferentes condiciones de cultivo.

Consistente con lo anterior y en búsqueda de la comparación de valores hematológicos en diferentes especies de peces, bajo diferentes condiciones de alimentación, los niveles de eritrocitos en el presente estudio se observaron entre 2.44 ± 0.25 y $2.99 \pm 0.25 \times 10^6$ cel μl^{-1} en los juveniles alimentados con las dietas experimentales, asimismo, el contenido del hematocrito disminuyó manteniendo una tendencia con la cantidad de glóbulos rojos, se encontró entre 22.1 ± 1.37 y 16.7 ± 2.08 por ciento. En juveniles de *T. macdonaldi*, Salcedo (2011), reportó que al aumentar los niveles de almidón en la dieta, la cantidad de hematocrito se mantiene entre 34 ± 4 a 39 ± 4 %, mientras en para corvina blanca (*A. nobilis*) especie de la misma familia (*Scianidae*), los conteos del porcentaje del hematocrito y los Gr se mantuvieron en un intervalo de 27.4 ± 4.4 a 32.4 ± 5.9 y de 1.5 ± 0.3 a $2.1 \pm 0.3 \times 10^6$ cel μl^{-1} respectivamente, al ser alimentados con dietas que contenían 22 % de carbohidratos y con diferentes niveles de proteína digestible (44, 40, 34 y 29 %) y adicionada con un probiótico (Bañuelos Vargas, 2009). Por otra parte, Vizcaíno Pérez (2011) reportó que en corvina blanca los niveles de hematocrito fueron de 26.4 ± 2.8 a 28.6 ± 2.7 % y de 2.9 a 3.1×10^6 cel μl^{-1} de eritrocitos, al alimentar a los organismos con diferentes niveles, combinaciones y fuentes de lípidos totales (aceite de maíz y de linaza) en las dietas. En el presente estudio, los

niveles del hematocrito y de glóbulos rojos de los peces se encontraron más elevados, y esto se podría deber a un tipo de respuesta de los organismos por el reemplazo de la fuente proteica en las dietas, sin embargo, Stockham *et al.* (2002) reporta que en organismos terrestres en perfecto estado de salud el número de eritrocitos puede aumentar con una disponibilidad en órganos hematopoyéticos (riñón, timo, bazo, hígado) suficiente para mostrar un aumento desde 30 hasta un 50 % la cantidad de eritrocitos en la sangre, además, Thrall *et al.* (2006) señalan que los conteos de glóbulos rojos en los peces, también pueden variar según el porcentaje de eritrocitos de reserva, liberados en el torrente sanguíneo que son producidos por los órganos hematopoyéticos, con base a los requerimientos del organismo en situaciones normales, por lo tanto, el hematocrito y el conteo de eritrocitos, de acuerdo a los valores descritos para juveniles de *T. macdonaldi*, nos permiten suponer que es probable que aunque existen diferencias entre especies, se encontraban dentro de un intervalo considerado de buen estado de salud. Estudios similares al nuestro se ha realizado en otras especies de peces marinos como el pargo lunarejo (*L. guttatus*), donde sustituyeron en la dieta la proteína de pescado por harina de soya y observaron que el contenido de hemoglobina y hematocrito se encontró dentro de los rangos considerados normales al sustituir la proteína en la dieta hasta un 60 % con harina de soya como se ha observado en otras especies de peces carnívoros marinos respectivamente, (Silva-Carrillo *et al.*, 2012).

7.2.2. Índices Wintrobe.

La hematología como herramienta de diagnóstico por medio de los Índices de Wintrobe (MCH, MVC y MCHC) o índices eritrocitarios, permiten determinar desordenes del eritrocito utilizando la relación del volumen del paquete celular, concentración de hemoglobina y número de células, la interacción sobre los valores normales permite diagnosticar condiciones de anemia, de acuerdo a valores cuantitativos obtenidos de organismos saludables (Boccio *et al.*, 2003). En el presente estudio la proteína de soya no afectó el volumen del eritrocito (MVC) de los organismos, es probable que puede ser un valor normal de la especie en cuanto a tamaño de la célula (eritrocito normocítico) por no presentar diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Thrall *et al.*, 2006), sin embargo, de acuerdo a un análisis en conjunto de los índices eritrocitarios se observa una relación entre el HCM y el porcentaje de CHCM, pero esta no mantiene una tendencia, sin embargo los valores más bajos se observan con las dietas DC y SP90, es probable que esto manifieste una deficiencia alimenticia por efecto de algunos antinutrientes de la proteína vegetal que son quelantes de minerales a nivel intestinal además de la enteritis reportada en algunas especies por efecto de los antinutrientes, lo cual posiblemente indica una respuesta sanguínea de alteración del eritrocito hipocrómico por deficiencia de hierro (concentración de hemoglobina disminuida), sin embargo la respuesta de los peces alimentados con la DC, es sorprendente y requiere de mayores análisis de la calidad de la harina de soya (Beck, 2009).

La concentración media de hemoglobina corpuscular (MHC) en el presente estudio disminuyó conforme aumentaba el nivel de inclusión de proteína de soya en la dieta para juveniles de totoaba. Silva-Carrillo *et al.* (2012), reportan que la concentración de media de hemoglobina corpuscular (Índice de Wintrobe) en juveniles de *L. guttatus* alimentados con dietas isoprotéicas e isoenergéticas elaboradas con un 60 % de reemplazo de harina de pescado por harina de soya no tuvo cambios significativos conforme el nivel de sustitución de proteína de soya en la dieta aumentaba, observándose organismos con menor ganancia en peso respecto a los organismos de las dietas con niveles menores de reemplazo de harina de pescado.

Olsen *et al.*, (2007) encontraron una disminución en el MHC (media de hemoglobina corpuscular) y MVC (media del volumen celular), conforme aumentaba el nivel de sustitución de la proteína vegetal por proteína de harina de pescado en juveniles del bacalao *G. morhua*. Así mismo, Hemre *et al.* (2005) observaron un efecto en la salud de juveniles del salmón *Salmo salar* L al ser alimentados con dietas elaboradas a partir de fuentes de soya no modificadas y modificadas genéticamente, reportaron una disminución del MVC, aunado a la disminución del tamaño del bazo, efecto relacionado con una liberación temprana de eritrocitos inmaduros. Así mismo, Olsen *et al.* (2007) relacionaron la disminución en la concentración de hemoglobina celular media (CHCM) de los peces con el aumento de las células rojas de la sangre, señalando que este efecto puede ser causado por deficiencias del hierro o anomalías del hígado. En el presente estudio en la MCH presentó una ligera disminución conforme aumentaba el nivel de sustitución

de la proteína de soya por la proteína de pescado en la dieta. Esta tendencia podría relacionarse a deficiencias de hierro en los peces, ya que se ha reportado que la capacidad de absorción del intestino para asimilar el hierro disminuye cuando la dieta presenta sustancias anti nutricionales como el ácido fítico presente en la harina de soya (Francis *et al.*, 2001). En este estudio el MVC no mostró una tendencia significativa lo cual podría suponer un tamaño adecuado del órgano (bazo) en los organismos, de acuerdo a la disminución de los eritrocitos en el presente estudio podría ser efecto de las necesidades fisiológicas del organismos con respecto al crecimiento, ya que diferencias del MVC se ha relacionado la disminución del tamaño del bazo ocasionando un incremento de eritrocitos inmaduros (Olsen *et al.*, 2007).

7.3. Química plasmática

7.3.1. Glucosa

La respuesta de la glucosa en plasma en los tratamientos fue muy variable entre las dietas utilizadas, lo cual no permite obtener una tendencia respecto a los niveles de inclusión de proteína de soya, el intervalo de glucosa observado en el presente trabajo fue de 35.0 ± 10.46 a 56.6 ± 10.87 mg dL⁻¹. Los resultados encontrados en el presente estudio fueron similares a los reportados por Salcedo (2011), quien trabajo con juveniles de la misma especie y utilizó diferentes niveles de almidón en dietas que contenían 50 % de proteína, reportando glucosa plasmática de 34 a 76 mg dL⁻¹, diversos autores han reportado que niveles altos de glucosa están relacionados con el estrés en condiciones de cultivo, manejo y

aplicación de antibióticos con la toma de muestra (Coz-Rokavac, et al., 2005; Trenzado et al., 2006), por otra parte, se han encontrado niveles altos de cortisol que actúan como mediadores de estrés, con una concentración de glucosa baja, ya que la glucosa en plasma se encuentra regulada por procesos gluconeogénicos y glucogenolíticos (Navarro y Gutiérrez, 1995).

Con respecto a los niveles de glucosa reportados para otras especies marinas y carnívoras, Bañuelos Vargas (2009) reportó que los valores de glucosa en *A. nobilis* fluctuaron entre 80 y 168 mg dl⁻¹ al ser alimentada con dietas que contenían diferentes niveles de proteínas, 22% de almidón y adicionada con probiótico, los valores normales para esta especie fueron considerados de 80 a 168 mg dl⁻¹. De acuerdo a los resultados de este estudio los valores reportados fueron superiores, sin embargo, es importante señalar que las concentraciones plasmáticas presentan una fuerte variación entre e intra especies, debido a variaciones en los factores ambientales, como la luz, temperatura ambiental, estación, así como el contenido químico de la dieta. (Hemre et al., 2002).

7.3.2. Proteína, Albumina y relación Albumina: Globulinas

La concentración de proteína en plasma está relacionada con el contenido y calidad de la proteína en la dieta, así como con la cantidad de la ración de alimento otorgado a los peces (Storebakken et al., 1991; Pérez-Jiménez et al., 2007), y refleja el estado de salud de los organismos (Ding et al., 2009). Congleton y Wagner (2006), en un experimento observaron que después de privar la alimentación a juveniles de salmónidos encontraron que los niveles de proteína plasmática no aumentaban de manera significativa al reiniciar la alimentación, los niveles

reportados de proteína fueron bajos durante las primeras dos semanas después de privar la alimentación de los peces, con respecto a los peces que recibieron alimentación diariamente, los autores señalan que los niveles de proteína plasmática están relacionados con la condición corporal de los peces. Por lo anterior el efecto del tamaño de la ración de alimento se relaciona con la disminución en la ingesta de alimento en los organismos, debido a la inclusión de proteína de soya en las dietas de los organismos, los niveles de proteína plasmática disminuyeron, lo cual podría ser debido a un efecto de los factores intrínsecos de la dieta que afectan tanto el consumo del alimento debido a la ingesta involuntaria de los organismos y por ende el crecimiento, esta respuesta fue más notable en los peces alimentados con los niveles altos de inclusión de proteína de soya (Gomes *et al.*, 1995).

Álvarez *et al.* (2013) determinaron el grado de desnutrición en tres especies de agua dulce (*Ictalurus punctatus*, *Morone saxatilis*, *Micropterus salmonoides*), observaron que los niveles de proteína total en plasma variaron con tendencias diferentes en cuanto a la respuesta por los peces, al someter a los peces a un periodo de desnutrición moderada (15 días) y severa (100 días). En el primero encontraron que los niveles de proteína disminuían conforme aumentaban los niveles de hematocrito y hemoglobina, mientras que en estado de desnutrición severa la tendencia mostro un comportamiento idéntico en las especies con un aumento de la concentración de proteína en el plasma con disminución del hematocrito y hemoglobina.

En el presente estudio los niveles de proteína y albumina disminuyeron conforme aumentaba el reemplazo de la harina de pescado por proteína de soya.

La disminución de la concentración de proteína en plasma está relacionada con la ingesta insuficiente a través de la dieta, falla hepática, falla renal, hemorragias, procesos catabólicos e inflamación del tracto gastrointestinal (Stockham *et al.*, 2002; Thrall *et al.*, 2006; Campbell *et al.*, 2007), este último, se puede relacionar con el aumento del índice viscerosomático observados al aumentar la cantidad de proteína de soya en la dieta de los organismos y explicar la disminución de las proteínas por posible inflamación intestinal causada por la soya, que al aumentar agrava el problema entérico lo que posiblemente afectó la digestión (anti-tripsina) y absorción (inflamación) de las proteínas por el intestino.

En el presente estudio la relación Alb:Glb plasmática de los juveniles alimentados con SP90, SP100 presentaron la relación más baja. Diversos autores mencionan que a una concentración elevada de proteína en el plasma puede ser indicador de inflamación, infecciones o enfermedad hepática. En este estudio al analizar que fueron las globulinas las de mayor concentración de las proteínas plasmáticas, se puede tener mayor confianza en que los peces podrían estar cursando con inflamación intestinal o hepática por los antinutrientes de la soya (Coz-Rakovac *et al.*, 2005; Thrall *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2009). Sin embargo, y sorprendentemente la relación Alb:Glb también disminuyó en los DC y SP15, y como se mencionó antes, esta respuesta requiere de más estudios y mayores análisis de la calidad de la harina de soya utilizada de diferentes fuentes comerciales, sobre todo, con respecto a los compuestos anti-nutricionales, los cuales han demostrado afectar el sistema digestivo de los peces marinos carnívoros .

8.0. CONCLUSIONES

Los cambios en la variación nutricional de las dietas tienen efectos sobre la salud de los organismos debido a sus hábitos alimenticios. En el presente estudio la sustitución parcial de proteína de soya en las dietas para juveniles de *T. macdonaldi* mostró un efecto significativo en las variables de hematología y química sanguínea.

La cantidad de proteína de soya en los tratamientos no afectó la supervivencia de los organismos alimentados durante ocho semanas en condiciones controladas.

Los organismos alimentados con las dietas SP15 y SP30 mostraron la mayor ganancia en peso que la dieta DC y los tratamientos con inclusión de proteína de soya superior al 45 %.

El número de eritrocitos, porcentaje de hematocrito, concentración de hemoglobina, proteína y glucosa disminuyeron por efecto del aumento en los niveles de sustitución de proteína de soya de las dietas de juveniles de *T. macdonaldi*.

La concentración de glucosa plasmática no mostró una tendencia que pudiera considerarse un efecto de la sustitución parcial de proteína de soya en la sangre de juveniles de *T. macdonaldi*.

9.0. BIBLIOGRAFIA

- 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.

- Alami-Durante, H., Médale, M., Cluzead, M., Kaushik, S.J., 2010. Skeletal Muscle growth dynamics and expression of related genes in white and red muscles of rainbow trout fed diets with graded levels of a mixture of plant protein sources as substitutes for fishmeal. *Aquaculture* 303, 50-58.
- Álvarez, P. Ramírez, C. y Orbe, A., 1999. Desarrollo de la acuicultura en México y perspectivas de la acuicultura rural. Red de Acuicultura Rural en Pequeña Escala. pp. 38
- Álvarez-Mendoza, F.J., Tamez-Cantú, E.M., Montemayor-Leal, J., 2013. Parámetros hemáticos en tres especies de peces (*Ictalurus punctatus*, *Morone saxatilis* y *Micropterus salmoides*) en condiciones de desnutrición. Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo N° 10.
- Anderson, J. S., S. P. Lall, D. M. Anderson, M. A. McNiven., 1993. Evaluation of protein quality in fish meals by chemical and biological assays. *Aquaculture*. 115, 305-325.
- 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., Vol. 12, 27–40.
- Avilés-Quevedo A., Castelló-Orvay, F., 2004. Manual para el cultivo de *Seriola lalandi* (pisces: Carangidae) en Baja California Sur, México., Instituto Nacional de Pesca. Dirección General de Investigación en Acuicultura. Secretaría de Acuicultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Pág.1-64.
- Bañuelos-Vargas M. I., 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 prebiótico. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada B.C., México, pp. 73
- Bañuelos-Vargas, M.I., 2014. Respuesta del metabolismo hepático y fisiológico de juveniles de *Totoaba macdonaldi* ante la inclusión de proteína de soya y almidón en dietas suplementadas con taurina. Tesis de doctorado.

Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada B.C., México, pp. 184

- Barrows, F.T., Stone, D.A.J., Hardy, R.W., 2007. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 265, 244– 252.
- Barrows, F.T., Gaylord, T.G., Sealey, W.M., Smith, C.E., Porter, L., 2010. Supplementation of plant-based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with macro-minerals and inositol. *Aquaculture Nutrition*, 16, 654-661
- Bastardo, A., Díaz, B.R., 2004. Parámetros hematológicos de la paragua *Chaeto dipterusfaber*, Broussonet (Pices: Ehippidae), en condiciones de cultivo. *Zootecnia Tropical*, 22 (4), 361-370.
- Beck, N. 2009. Diagnostic Hematology. Springer Ed. London, p 488.
- Berdegué, A.J., 1955. La pesquería de la totoaba (*Cynoscion macdonaldi*), en San Felipe, Baja California. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 16(1-4), 45-78.
- Berge, G.M., Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. 1999. Soy protein concentrates in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 178, 139-148
- Boccio, J., Salgueiro, J., Lysionek, A. Zubillaga, M. Goldman, C. Weill, R. Caro, R. 2003. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 29 pp.
- Cabral, E.M., Bcelar, M., Batista, S., Castro-Cunha, M., Ozório, R.O.A. Valente, L.M.P. 2011. Replacement of fishmeal by increasing level of plant protein blend in diets for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture* 322-323, 74-81.
- Campbell, T.W., Ellis, C.K., 2007. Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology. Tercera Edición. Blackwell Publishing. USA. 287.
- Cannon R. 1966. The Sea of Cortes. Lane Magazine and Book Co., Menlo Park, Calif.

- Carter, C.G., Hauler, R.C., 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 185, 299–311.
- Castelló, F. 1993. *Acuicultura Marina: Fundamentos biológicos y tecnologías de producción*. Edición II. Título III. Colección I. Editorial Universidad de Barcelona. pp. 288
- Centeno, L., Silva-Acuña, R., Barrios, R., Salazar, L.R., Matute, C., Pérez, L.J., 2007. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amaruco, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 24(4), 237-243
- Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K., Lee, K.J., 2004. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture* 242, 553-569
- Chong, A., Hashim, R., Ali, A., 2003. Assessment of soybean meal in diets for discus (*Shymphysodon aequifasciata*, HECKEL) farming through a fish meal replacement study. *Aquaculture Research* 34, 913 – 922.
- Cisneros-Mata M, Botsford LW, Quinn JF., 1997. Projecting of *Totoaba macdonaldi*, a population with unknown age-dependent variability. *Ecol. Appl.* 7, 968-980.
- CITES. 2005. Appendices I, II and III (12/01/2005). Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Geneva, Switzerland, 49 pp.
- Civera-Cerecedo, R., Ortiz-Galindo, J.L., Dumas, S., Nolasco-Soria., Álvarez-González, C.A., Anguas-Vélez, B., Peña-Martínez, R., Rosales-Velázquez, M.O., Carrasco-Chávez, R., García-Gómez, R., Goytortúa-Bores, E., 2002. Avances en la nutrición de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*. pp. 352-408. En: Cruz-Suárez, L.E., Rique-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds). VI Symposium Internacional de Nutrición Acuícola, 3 al 6 de Septiembre de 2002, Cancún, Quintana Roo, México

- Congleton, J.L., Wagner, T., 2006. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. *Journal of Fish Biology* 69, 473-490
- Conklin D.E; Piedrahita R.H; Merino G.E; Muguet J.B; Bush D.E; Gisbert Rounds J; Cervantes-Trujano M., 2003. Development of California halibut, *Paralichthys californicus*, culture. *Appl. Aquacult.* 14, 143–154.
- Coz-Rakovac, R., Strunjak-Perovic I., Hacmanjek M., Popovic N. T., Lipej Z., Sostaric B., 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured seabass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. *Veterinary Research Communications* 29 (8), 677-87.
- De Pedro, N., Guijarro, A., López-Patiño, M.A., Martínez-Álvarez, R.M., Delgado, M.J., 2005. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36, 1185-1196
- Ding L., Zhang L., Wang J., Ma J., Meng X., Duan P., Sun L. Sun Y., 2009. Effect of dietary lipid level on the growth performance, feed utilization, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture Research* 1-9.
- Duncan, N., Rodríguez, G., Alock, D., y Zohar, Y., 2003. Effects of controlled delivery and acute injections of LHRH-a on bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus* spawning. *Aquaculture* 218, 625-635.
- FAO, 2010. Estado mundial de la pesca y acuicultura. FAO, Roma, 242pp. ISBN 978-92-5-306675-9.
- FAO, 2012. Estado Mundial de Pesca y Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, pp. 233
- Francis, G., Makkar, H.P.S. & Becket, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227
- Galaviz, M. 2011. Expresión y actividad de enzimas digestivas durante el desarrollo del tracto digestivo de *Totoaba macdonaldi*, *Atractoscion nobilis* y *Lutjanus guttatus* bajo condiciones de cultivo. Tesis de doctorado. Facultad

de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. Mexico. 219 pp.

- Galaviz, M.A., García-Gasca, A., Drawbridge, M., Álvarez-González, C.A., López, L.M., 2011. Ontogeny of the digestive tract and enzymatic activity in White seabass *Atractoscion nobilis* larvae. *Aquaculture* 318, 162-168
- Gao W., Liu, Y. J., Mai, g., Tian, L., Liang, G., 2011. Protein-sparing capability of dietary lipid in herbivorous and omnivorous freshwater finfish: a comparative case study on grass carp (*Ctenopharynx godonidella*) and tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). *Aquaculture Nutrition* 17, 2-12.
- García, 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.
- García-Ortega A., 2009. Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* and bullseye puffer *Sphoeroides annulatus*, new species for marine aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry* 35, 69-80.
- Gatlin, D., Barrows, F., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, G. Hardy, R. Hu, G., Kroghdahl, A., Nelson, R., Overturf, K. Sealey, D., Souza, E., Stone, D. Wilson, R. Wurtele, E., 2007, Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38, 551-579.
- Gisbert, E., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut *Paralichthys californicus* with notes on feeding practices. *Aquaculture* 232, 455-470.
- 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.
- Glencross, B., Hawkins, W., Curnow, J., 2004. Nutritional assessment of Australian canola meals. II. Evaluation of the influence of the canola oil extraction method on the protein value of canola meals fed to the red seabream (*Pagrus auratus*, Paulin). *Aquaculture Research* 35, 25-34

- Gomes, F.E., Rema, P., Kaushik, J.S. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture* 130: 177-186
- 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. 1999. Collaborative opportunities between fish nutrition and other disciplines in aquaculture: an overview. *Aquaculture* 177 (1-4), 217-230.
- 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.
- Hemre, G.I., Sanden, M., Bakket-Mackellep, A.M., Sagstad, A., Krogdahl, A., 2005. Grow, feed utilization and health of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed genetically modified compared to non-modified commercial hybrid soybeans. *Aquaculture Nutrition* 11, 157-167
- Herman, R.L., 1970. Effects of gossypol on rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 2, 293–297.
- 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.
- Hosseini, S.A., Khajepour, F., 2013. Effect of partial replacement of dietary fish meal with soybean meal on some hematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga, *Huso huso*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 12(2), 348-356
- Ibarra-Castro, L., Alvarez-Lajonchere, L., 2011. GnRHa induced multiple spawns and voluntary spawning of captive spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*), at Mazatlán, Mexico.
- 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.

- Kasper, C., Watkins, B. Brown, P., 2007. Evaluation of two soybean meal fed to yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture Nutrition* 13, 431-438.
- 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.
- López, L.M., Durazo, E., Rodríguez, G.A., True, C.D., Viana M.T., 2006. Proximate composition and fatty acid profile of wild and cultured juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Ciencias Marinas* 32(2), 303–309.
- López, L.M., Durazo, E., Viana, M.T., Drawbridge, M., Bureau, D., 2009. Dietary lipid levels effect on performance, body composition and fatty acid profile of juvenile white seabass, *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture* 289,101-105.
- Mata Sotres, J. A., 2010. Evaluación del éxito en el destete en larvas de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) y jurel cola amarilla (*Seriola lalandi dorsalis*) utilizando el crecimiento, supervivencia y/o tasas de ingestión Tesis de maestría en ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Mbahinzireki, G.B. Dabrowski, K.J., EL-Saidy, D., Wisner, E.R., 2001. Growth, feed utilization, and body composition of tilapia (*Oreochromis sp.*) fed cotton seed meals based diets in a recirculating system. *Aquaculture Nutrition* 7, 189–200.
- Moksness, E., Kjorsvik, E., Olsen, Y., 2004. Culture of cold-water marine fish. Blackwell Publishing. UK. 528 pp.
- Moon, T.W. 2001. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 129, 243-249.
- Morales, C. 1999. Descripción del desarrollo embrionario de *Totoaba macdonaldi* en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura, UABC-FCM. Ensenada B. C. México. 56 pp.

- Mundheim, H., Aksnes, A., Hope, B., 2004. Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. *Aquaculture* 237, 315–331.
- Navarro, I. & Gutiérrez, J., 1995. Fasting and starvation. In *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes* (Hochachka, P. W. & Mommsen, T. P., eds), pp. 393–434. New York: Elsevier.
- Olaleye S.B, Iranloye B.O, Salami H.A and Elegbe R.A., 1999. Erythrocyte osmotic fragility and other blood parameters in rats fed with diets containing raw and processed soybeans (*Glycine max*). *Biosci Res. Comm.* 11(2), 107-112
- Olsen, R.E., Hansen, A.N., Rosenlund, R., Hemre, G.I., Mayhew, T.M., Knudsen D.L., Eroldogan, O.T., Myklebust, R., Karlsen, O., 2007. Total replacement of fish meal with plant protein in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II – Health aspects. *Aquaculture* 272, 612-624
- Olsen, R.L., Hasan, M.R., 2012. A limited supply of fish meal: Impact on a future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology* 27, 120-128
- Peres, L., Gonzales, H., Klesius, P.H., 2003. Nutritional value of heat-treated soybean meal for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 225, 67 – 82.
- Pérez-Jiménez, A., Guedes M. J., Morales A. E. & Oliva-Teles A., 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* 265, 325-335.
- Refstie, S., Storebakken, T., Roem, A.J., 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture* 162, 301 – 312.
- Refstie, S., Storebakken, T., Baevefjord, G., Roem, A.J., 2001. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial

replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. *Aquaculture* 193, 91-106

- Salcedo-Martín, J. S., 2011. Evaluación del efecto de dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con probiótico sobre las variables hematológicas de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de licenciatura. UABC. Ensenada, BC. 58 pp.
- Sandoval-Garibaldi, G., 2002. Desarrollo morfológico de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) durante su estadio larval. Tesis licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 57 pp.
- SEMARNAT-CONANP. 2007. Programa de Conservación y manejo Reserva de la Biósfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado. México. 386 pp.
- Silva-Carrillo, Y., Hernández, C., Hardy, R., Gonzáles -Rodríguez, B., Castillo-Vargasmachuca, S., 2012. The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture* 364–365, 180–185.
- Skugor, S., Gridale-Helland, B., Refstie, S., Afanasyev, S., Vielma, J., Krasnov, A., 2011. *Aquaculture Nutrition* 17, 505-517.
- Solórzano, Y. 2006. Efecto de niveles de alimentación sobre el crecimiento y composición química de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 44 pp.
- Stockham S.L., Scott M. A., 2002. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Iowa State Press. USA. 610
- Storebakken, T., Hung, S. S. O., Calvert, C. C., Plisetskaya, E. M., 1991. Nutrient partitioning in rainbow trout at different feeding rates. *Aquaculture* 96, 91–203.
- 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.

- Tacon, A., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146-158.
- Tantikitti, C., Sangpong, W., Chiavareesajja, S., 2005. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass. (*Lates calcarifer*). *Aquaculture* 248, 41 – 50.
- Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., 2006. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Blackwell Publishing. USA. 518 pp.
- Torstensen, B.E., Espe, M., Sanden, M., Stubhaug, I., Waagbo, R., Hemre, G.I., Fontanillas, R., Nordgarden, U., Hevroy, E.M., Olsvik, P., Berntssen, M.H.G., 2008. Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combine replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. *Aquaculture* 285, 193-200.
- Trenzado, C. E., Morales A. E., De la Higuera M., 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mukiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture* 258, 583-593.
- True C.D., A. Silva Loera y N. Castro Castro., 1997. Acquisition of *Totoaba macdonaldi* (*Sciaenidae*) broodstock: field handling, decompression and prophylaxis of an endangered species. *Progressive Fish-Culturist*. 59(3), 246-248.
- True, C. 2012. Desarrollo de la Biotecnia de Cultivo. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California.
- Twibell, G.R., Gannam, L.A., Hyde, M.N., Holmes, S.A.J., Poole, B.J., 2012. Effects of fish meal and fish oil free diets on growth responses and fatty acid composition of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 360-361, 69-77
- Valenzuela, A., Oyarzún, C., Silva, V., 2003. Blood cells of the *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): the leukocytes (Elasmobranchii, Scyliorhinidae). *Gayana* 67(1), 130-137.
- Vizcaíno-Pérez, E. 2012. Efecto en el crecimiento, consumo, sobrevivencia y composición proximal de juveniles de *Totoaba macdonaldi*, alimentados con

dietas isoproteicas formuladas con distintos niveles de energía Tesis Licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México.38. 83 pp.

- Weeks, C., Garling, D., Barrows, F.T., Faisal, M., 2010. The effect of feeding varying levels of soybean meal in High-Nutriente-Density diets on growth performance and body composition of juvenile *Atlantic salmon*. North American Journal of Aquaculture 72, 279-289
- Wilson, R.P. 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. Aquaculture 124, 67–80.
- Wilson, R.P. 2002. Amino acids and proteins. En: J. E. Halver y R. W. Hardy (eds.). Fish nutrition. Tercera edición. Academic press. San Diego, CA, USA. 143-179 p.
- 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 X., Li M., Abbas K. & Wang W., (2009) Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Fish Physiology and Biochemistry 35, 435-441.
- Zhou, Q.C., Mai K.S., Tan B.P. Lui Y.J., 2005. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture Nutrition 11, 175-182.