



**Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Marinas
Instituto de Investigaciones Oceanológicas**



**Efecto de la concentración de aceite de linaza y maíz en la dieta,
sobre el crecimiento, composición proximal, respuesta hematológica
y química sanguínea en juveniles de corvina blanca *Atractoscion
nobilis***



Tesis que para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología

P r e s e n t a:

Emmanuel Vizcaíno Pérez

Ensenada, Baja California. Octubre 2012

Efecto de la concentración de aceite de linaza y maíz en la dieta, sobre el crecimiento, composición proximal, respuesta hematológica y química sanguínea en juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis*

Tesis que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología

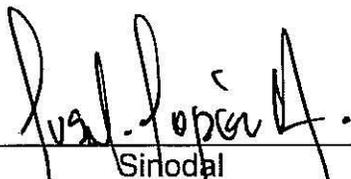
Presenta:

Emmanuel Vizcaíno Pérez

Aprobada por:



Directora de tesis
Dra. Maricela Flores Ibarra



Sinodal
Dra. Lus Mercedes López Acuña



Sinodal
Dr. Mario Alberto Galavíz Espinoza

Agradecimientos

A mi comité de tesis Dra. Maricela Flores Ibarra, Dra. Lus Mercedes López Acuña y el Dr. Mario Alberto Galavíz Espinoza, por su guía y grandes aportaciones a este trabajo, por su paciencia y apoyo, pero más que nada por haber ido más allá de su deber brindándome su amistad.

Al CONACYT y el posgrado de Ecología Molecular y Biotecnología por el apoyo económico y la oportunidad de terminar mis estudios de maestría.

A la Unidad de Biotecnología en Piscicultura por prestar sus instalaciones para la realización del bioensayo y al equipo de trabajo de esta unidad: Dr. David Conal, Gerardo, El Capitán, Miguel, Estefana y Cesar.

Al instituto Hubbs Sea World Research quienes donaron los juveniles de corvina para la realización del experimento.

A los profesores de la Maestría en Ecología Molecular y Biotecnología por compartir su experiencia y conocimientos.

A mis compañeros del laboratorio de nutrición Isaura, Jesús, Idaly, Disraeli y Abigail quienes me ofrecieron su apoyo y conocimiento sobre las técnicas del laboratorio y por los convivios fuera del plantel.

A los grandes amigos de Ensenada Aarón, Laura y Camila, Alethia, Raúl, y Renata, Marcela y Javier, quienes llegaron a convenirse en una verdadera familia.

Mi eterno agradecimiento a mis padres Berenice y José María que junto con mis hermanas Betzabé y Berenice siempre me han brindado su apoyo y cariño procurando siempre mi bien estar, los amo.

A Betty por su comprensión y apoyo, gracias por todo el cariño siempre encuentras las palabras para hacerme sentir mejor.

A mis tíos Lucia Rivera y Lauro Aguilar, así como a mis primos José Antonio, Lourdes, Gerardo y Juan Carlos quienes me abrieron las puertas de su hogar y siempre me han apoyado.

A toda mi familia, siempre estarán en mi corazón y mis recuerdos, muchas gracias siempre añoro el día en que nos volveremos a reunir.

Gracias a Dios por brindarme todas estas oportunidades y rodearme de todas esas personas que me han guiado e inspirado para ser día con día una mejor persona.

Dedicado

A la memoria de José Antonio Vizcaíno García padre, maestro y amigo, tus enseñanzas prevalecerán y vivirás por siempre en nuestro ser.

A todo el esfuerzo y dedicación que Berenice y José María han realizado en pro de la superación de sus hijos, legándonos en vida el mayor de los tesoros.

Universidad Autónoma de Baja California

Resumen

Efecto de la concentración de aceite de linaza y maíz en la dieta, sobre el crecimiento, composición proximal, respuesta hematológica y química sanguínea en juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis*

La gran demanda de harina y aceite de pescado para la elaboración de alimentos balanceados en la acuicultura y el costo de dichos insumos ha obligado a los investigadores a buscar fuentes de nutrientes alternas, principalmente al cultivar peces carnívoros. En respuesta a la problemática con el aceite de pescado, se ha optado por probar aceites vegetales como sustitutos parciales. El objetivo del presente trabajo es conocer el efecto de sustituir el 50 % de los lípidos totales de la dieta para *Atractoscion nobilis* (30 g) con aceite de linaza en combinación con aceite de maíz 75 % linaza / 25 % maíz (dieta L75/M25), 50 % linaza / 50 % maíz (dieta L50/M50), 25 % linaza / 75 % maíz (dieta L25/M75) y una dieta con 100 % aceite de maíz (M100), utilizando como testigo una dieta elaborada sólo con aceite de pescado (P100). Se elaboraron 5 dietas isoproteicas, isolipídicas e isoenergéticas (50 % proteína, 18 % lípidos, 10 % almidón, 13 % ceniza y 4950 cal g⁻¹) y se ofrecieron durante 13 semanas a los juveniles de corvina blanca distribuidos en 15 tanque, (9 peces por tanque; 3 replicas por tratamiento). Al finalizar el experimento las dietas L75/M25, L50/M50 y M100 generaron

crecimiento similar al obtenido con el tratamiento P100. Los análisis proximales en pez entero indican que la inclusión de 50 % aceite vegetal en la dieta para corvina producen mayor contenido de proteína y lípidos en el cuerpo, comparados con los resultados obtenidos con P100. Por otra parte la digestibilidad de la proteína en el alimento fue mayor en la dieta P100, sin embargo, la digestibilidad de los lípidos fue más elevada en las dietas que contenían aceite vegetal (linaza y maíz o sólo maíz). El consumo de aceite vegetal no generó diferencias en los parámetros hematológicos de corvina blanca, por otro lado, en los parámetros plasmáticos de corvina la concentración de glucosa y triglicéridos fue mayor en los organismos que consumieron dietas elaboradas con aceite de linaza.

Contenido

Introducción	10
Historia y descripción de la especie.....	13
Antecedentes	16
Requerimientos nutricionales de <i>Atractoscion nobilis</i>	16
Aceite vegetal en dietas para peces carnívoros	17
Hematología en Peces	20
Objetivo general	24
Objetivos particulares	24
Hipótesis	25
Metodología	26
Dietas experimentales	26
Sistema de cultivo.....	28
Técnicas de muestreo	29
Análisis y Cálculos.....	31
Análisis estadístico	38
Resultados	39
Parámetros de crecimiento.....	39
Contenido químico proximal	41
Digestibilidad <i>in vivo</i>	45
Parámetros hematológicos y química sanguínea	49
Discusión	54
Parámetros de crecimiento.....	54
Contenido químico proximal	57
Digestibilidad <i>in vivo</i>	62
Parámetros hematológicos y química sanguínea	65
Conclusiones	72
Referencias	74

Lista de tablas

Tabla	Contenido	Pag
I	Ingredientes de las dietas para juveniles de corvina blanca, <i>A. nobilis</i> , en las cuales se realizó un reemplazo parcial de aceite de pescado por aceites vegetales, valores correspondientes como g/100g y composición proximal de las dietas.	28
II	Parámetros de crecimiento en juveniles de corvina blanca <i>A. nobilis</i> , alimentados con dietas elaboradas con aceite de pescado, linaza y maíz, pescado y maíz o sólo aceite de pescado, durante 13 semanas de experimentación.	41
III	Contenido proximal en juveniles de corvina blanca, muestras de pez entero, alimentados durante 13 semanas con dietas que incluían aceite de pescado, maíz y linaza; aceite de pescado y maíz o sólo aceite de pescado.	42
IV	Contenido proximal en músculo de juveniles de <i>A. nobilis</i> alimentados durante 13 semanas con dietas que contenían 50 % de aceite vegetal; aceite de linaza y/o maíz.	43
V	Contenido químico proximal de hígado de <i>A. nobilis</i> alimentado con dietas que incluían 50 % aceite vegetal (linaza y/o maíz) durante un periodo experimental de 13 semanas.	44
VI	Contenido proximal en muestras de vísceras de corvina blanca alimentada con dietas elaboradas con aceite de pescado, linaza y maíz durante 13 semanas.	45
VII	Contenido proximal en heces de juveniles de <i>A. nobilis</i> alimentados durante 13 semanas con dietas que contenían aceite de linaza y maíz como sustituto parcial (50 %) del aceite de pescado.	46
VIII	Coeficiente de digestibilidad de dietas para <i>A. nobilis</i> elaboradas con aceite de linaza y maíz o aceite de maíz como reemplazo parcial (50 %) de los lípidos en la dieta. Digestibilidad de la energía y nutrientes de las dietas experimentales	48
IX	Parámetros hematológicos en juveniles de corvina blanca alimentados con dietas que incluían aceite de maíz y linaza como reemplazo parcial del aceite de pescado.	50
X	Química sanguínea de juveniles de corvina blanca alimentados durante 13 semanas con dietas elaboradas con aceite de pescado, maíz y linaza.	52

Introducción

La acuicultura en México es una actividad con gran potencial económico y productivo, en la actualidad participa con el 12 % de la producción pesquera nacional y se tienen predicciones que en los próximos años podría cubrir hasta el 40 % de la producción pesquera en nuestro país (FAO, 2012). Sin embargo, al igual que los aspectos técnicos del cultivo y la reproducción; La nutrición y el estado de salud de los organismos son primordiales para el éxito de ésta actividad. Uno de los objetivos principales de la nutrición acuícola es elaborar alimentos balanceados que cubran los requerimientos nutricionales de los organismos y promuevan la retención y asimilación de los nutrientes (Pirozzi *et al.*, 2010).

En la elaboración de los alimentos acuícolas, la harina de pescado es la fuente primordial de proteína animal. Las proteínas son de gran importancia en la dieta porque de éstas, se obtienen los aminoácidos esenciales para promover el crecimiento y desarrollo de los organismos (Ai *et al.*, 2004; Cho *et al.*, 2005). Las proteínas son los nutrientes precursores para la formación de órganos y tejido muscular. Además de su valor nutricional, son el ingrediente más costoso en la elaboración de alimentos, por ello, afectan en gran medida los aspectos económicos del cultivo (Arnason *et al.*, 2009). Al igual que las proteínas, los lípidos son de gran importancia en la formulación de alimentos, ya que éstos aportan ácidos grasos esenciales y son fuente de energía metabólica para los organismos (Wang *et al.*, 2005). En el proceso de elaboración de alimentos, el aceite de pescado se emplea generalmente como fuente de lípidos por su digestibilidad y alto contenido de ácidos grasos, principalmente los del tipo $\Omega - 3$, los

cuales son indispensables en la dieta de los peces carnívoros marinos (Izquierdo *et al.*, 2003).

Los lípidos también pueden promover el ahorro protéico, es decir, brindar energía metabólica para que la mayoría de las proteínas sean utilizadas en la producción de compuestos biológicos importantes, y no como un recurso energético (Ai *et al.*, 2004). Los carbohidratos también pueden desarrollar esa función en la dieta, sin embargo, los lípidos son por excelencia los candidatos para brindar energía no proteica, ya que su contenido calórico gramo por gramo es mucho mayor que el de los carbohidratos (Halver y Hardy, 2002). Por otra parte, algunas especies de peces marinos, especialmente los carnívoros, tienen muy poca capacidad para metabolizar los carbohidratos (Wilson, 1994; Hemre *et al.*, 2002)

Anteriormente hemos mencionado la importancia de utilizar aceite y harina de pescado para la formulación de alimentos acuícolas. Pero en los últimos años el acceso a estos insumos está muy limitado principalmente por el costo y la demanda de estos ingredientes por las diferentes industrias, aunado al estado decadente de las pesquerías alrededor del mundo (FAO, 2006). Es por eso, que la investigación acuícola se ha dedicado a buscar nuevos ingredientes para la manufacturación de alimentos para la acuicultura (Díaz-López *et al.*, 2009). En las últimas décadas, la atención de los nutricionistas se ha enfocado en los cereales y semillas, ya que algunos productos vegetales tienen altos contenidos de lípidos o proteína. Además consideran que es más fácil acceder a estos insumos porque se producen en grandes cantidades y tienen mejor precio de venta (Hardy, 2008).

Existen algunos aceites de origen vegetal que pueden ser utilizados en la industria de alimentos para la acuicultura, sin embargo, estos aceites deben de cumplir con ciertas características para poder ser empleados como ingredientes: ser altamente digestibles, que no deterioren el estado de salud de los organismos y que tenga un perfil de ácidos grasos adecuado para el desarrollo de los mismos (Turchini y Francis, 2009). Es fundamental que la fuente de lípidos empleada en la elaboración del alimento cubra el requerimiento de ácidos grasos de los peces, ya que de lo contrario, se pueden presentar alteraciones metabólicas que producen patologías severas e incluso la muerte de los organismos (Parpoura y Alexis, 2001).

Cuando se emplea nuevos ingredientes o fuentes alternativas de nutrientes en la dietas acuícolas, es necesario evaluar su efecto sobre el crecimiento de los organismos, la ingesta y digestibilidad del alimento, así como el balance de nutrientes de las dietas experimentales (National Research Council, 1993). Además es importante conocer el efecto de dichas dietas sobre el estado de salud de los organismos cultivados. Con la finalidad de conocer o estimar el estado de salud de éstos algunos autores han realizado análisis hematológicos para medir los parámetros sanguíneos y plasmáticos en los peces, con el objetivo de detectar alteraciones metabólicas que estén afectando su estado de salud. Una particularidad de éstos análisis es que son reproducibles e inmediatos, y no requieren el sacrificio de los organismos (Díaz-López *et al.*, 2009). Esta herramienta es muy útil para detectar alteraciones en los organismos, ya que existen muchos factores que afectan la salud de los peces como: las condiciones de cultivo, temperatura, calidad del agua, densidad de cultivo, períodos de alimentación y el manejo de los organismos (Zhou *et al.*, 2009). La implementación

de la hematología en la producción e investigación acuícola, nos puede ayudar a establecer los parámetros normales de las variables en la sangre de las distintas especies cultivadas y podremos estimar si los peces tienen un estado de salud adecuado (Rehulka *et al.*, 2004).

El cultivo de corvina blanca, *Atractoscion nobilis*, es de gran interés en la región de California, E.U.A. y la Península de Baja California, debido a la importancia de los programas que actualmente existen para su conservación y repoblamiento (Hervas *et al.*, 2010). En el presente, la reproducción de corvina blanca está bien desarrollada, pero es necesario generar mayor conocimiento de los aspectos nutricionales para el despunte del cultivo de esta especie. Por lo anterior, la investigación en la formulación de dietas que contengan fuentes alternas de nutrientes de origen vegetal, aunado, al efecto de éstas sobre el crecimiento y la salud de corvina blanca, son fundamentales. El presente trabajo además de evaluar el efecto del aceite de linaza y maíz, como sustituto parcial del aceite de pescado, sobre el desarrollo de los organismos; aportará mayor conocimiento, a través del análisis de los parámetros hematológicos y plasmáticos, sobre el impacto de la dieta en la salud de juveniles de *A. nobilis*.

Historia y descripción de la especie

Corvina blanca (*A. nobilis*), es un pez perciforme que pertenece a la familia **SCIAENIDAE**, algunos registros de captura han reportado una talla máxima de 150 cm, aunque comúnmente los peces alcanzan los 100 cm de longitud. Es una especie muy

importante para la pesca comercial y deportiva, su carne es altamente estimada por su exquisito sabor y textura (FAO, 1995). Se distribuye desde Juneau, Alaska, hasta Bahía Magdalena, Baja California Sur, sin embargo, la zona económica de mayor explotación pesquera se encuentra entre Punta Concepción, California E.U.A. y Punta Abreojos, Baja California México. Corvina blanca alcanza la madurez entre los 60 y 80 cm de longitud, y se reproduce durante los meses de primavera y verano. Es un pez de hábitos carnívoros, se alimenta principalmente de pelágicos menores, crustáceos y calamares (Vojkovich y Reed, 1983).

La captura de corvina blanca se realiza principalmente con redes agalleras y cañas. La pesquería de corvina tuvo gran éxito en la región de las californias, principalmente en California, E.U.A., sin embargo, de 1951 a 1980 las poblaciones de corvina en las costas de California, E.U.A, decayeron drásticamente. Los principales factores que propiciaron éste desequilibrio ecológico fueron: la sobrepesca, la extracción de juveniles por la pesca recreativa, la degradación del medio ambiente por actividades antropogénicas y los cambios oceanográficos de la región, principalmente los cambios de temperatura de la superficie del mar. Desde 1931 las autoridades de California, E.U.A. emitieron reglamentaciones para ésta pesquería, acordaron que la talla mínima de captura sería de 71 cm de longitud, también se estableció veda anual del 15 de marzo al 15 de junio (Vojkovich y Reed, 1983), y en 1994 se reubicaron las zonas donde los pescadores podían capturar el recurso, dictaminando que las redes debían tenderse a 3 millas náuticas del continente y a 1 milla de las islas ubicadas en esta región (Pondella y Allen, 2008).

Por otra parte, a principios de los años 80 la legislación de California puso en marcha el programa conocido como: “The Ocean Resource Enhancement & Hatchery Program”, y se crearon algunas piscifactorías para la reproducción en cautiverio de *A. nobilis* (Hervas *et al.*, 2010). La finalidad de dichas factorías, era producir organismos con fines de repoblamiento de la zona, y tomaron a corvina blanca como el candidato ideal por su importancia comercial y el mal estado de sus poblaciones en el sur de California (Bartley y Kent, 1990). La primera liberación de juveniles de corvina blanca se realizó en 1986, por una piscifactoría ubicada en Carlsbad, California, operada por Hubbs Sea World Research Institute. En los últimos años, la producción de corvina se ha desarrollado y estandarizado exitosamente y entre 1986 y 2006 se han liberado 1.13 millones de juveniles de corvina blanca en diferentes puntos de la Bahía Sur de California.

Los juveniles liberados son marcados con un “chip” electrónico que se inserta en el músculo de la mejilla, éste dispositivo provee información sobre la cohorte, edad, talla media de liberación y la localidad donde fueron liberados los organismos (Hervas *et al.*, 2010). Los esfuerzos de conservación de corvina y su reproducción en cautiverio han rendido buenos frutos y siguen contribuyendo con el repoblamiento de la especie en la Bahía Sur de California E.U.A y zonas aledañas, actividad que originó el interés del estudio para el desarrollo del cultivo de esta especie.

Antecedentes

Requerimientos nutricionales de *Atractoscion nobilis*

Se han realizado algunos estudios relacionados sobre los requerimientos nutricionales en juveniles de corvina blanca por parte de investigadores de la Universidad Autónoma de Baja California, apoyados por Hubbs Sea World Research Institute.

A. nobilis es un pez carnívoro, por lo tanto las dietas formuladas para su cultivo deben contener altos niveles de proteína. Durazo *et al.* (2010) evaluaron el requerimiento de proteína digestible (PD) en juveniles de corvina blanca y observaron que las dietas con mayor contenido de PD producían mayor crecimiento y sobrevivencia, lo que sugiere que corvina blanca usa primordialmente las proteínas como fuente de energía metabólica, y propusieron un nivel óptimo de proteína digestible de 503 g kg⁻¹ en la dieta. El requerimiento de lípidos de ésta especie fue estudiado por López *et al.* (2006) probaron dietas isoproteicas (≈ 61 %) variando el porcentaje de lípidos en las dietas, y observaron que *A. nobilis* tiene capacidad limitada para utilizar los lípidos como fuente de energía, a pesar de ser una especie que se distribuye en aguas templadas. También encontraron que los mejores resultados en peso ganado y tasa de crecimiento específico se obtuvieron con 15.5 y 18 % de lípidos en la dieta, niveles mayores de lípidos en la dieta produjeron menor crecimiento y afectaron el consumo del alimento. En otro estudio López y colaboradores en 2009, probaron el efecto del nivel de lípidos en la dieta sobre el crecimiento, composición proximal y el perfil de ácidos grasos. Observaron que el nivel de lípidos y la cantidad de

ácidos grasos, del tipo Ω -3 y Ω -6, de la dieta se ven reflejados en el músculo y el hígado de corvina blanca.

La utilización de fuentes alternas de proteína y energía también han sido probada en corvina blanca. En 2006 Briggs-Fajardo experimentó el efecto de la inclusión de harina de soya como sustituto parcial de la harina de pescado. Observó que al adicionar 10 % de harina de soya en la dieta, no se presentaron efectos negativos en la digestibilidad del alimento, el crecimiento y la sobrevivencia de corvina blanca. Por otra parte Trejo-Escamilla (2009) estudió el efecto de incluir almidón en el alimento para juveniles de corvina blanca, ofreciendo dietas isoproteicas e isocalóricas adicionadas con almidón (10, 14, 18 y 22 %) como fuente de energía no protéica, además adicionaron probióticos (bacterias del genero *Bacillus* spp.) en el alimento, con la finalidad de que los microorganismos transformaran el almidón en moléculas más simples que el pez pudiera absorber y metabolizar. Trejo-Escamilla reportó que los mejores resultados en crecimiento y peso ganado se presentaron en la dieta D22, que contenía 22 % de almidón. La inclusión de almidón y probióticos en la dieta para juveniles de corvina optimizó el crecimiento de los organismos, sin embargo, también se observó que al aumentar la cantidad de almidón en la dieta, se incrementó también la depositación de grasa en el pez.

Aceite vegetal en dietas para peces carnívoros

El uso de aceites vegetales como sustituto del aceite de pescado se ha estudiado en acuicultura, con particular interés en el cultivo de peces carnívoros. Uno

de los principales efectos de emplear aceites vegetales en la dieta, es la acumulación de los depósitos de grasa en los peces. Como fue observado en el estudio realizado con organismos de *Platichthys stellatus* alimentados con distintos niveles de lípidos en la dieta (6 a 22 %), con una fuente de lípidos de aceite de pescado y soya (razón 1:1), se reportó que la concentración de lípidos en pez entero se incrementó conforme aumentaron los lípidos en la dieta. Los resultados de este estudio sugirieron que estos organismos podían depositar gran cantidad de grasa en el hígado y el tejido muscular. Aunque el nivel de lípidos no afectó el crecimiento de los organismos, los autores concluyeron que el nivel óptimo de lípidos en la dieta fue de 10.62 % basados en sus resultados de peso ganado y tasa de crecimiento específico (Ding *et al.*, 2009). En 2010 Kowalska y colaboradores experimentaron con organismos de *Sander lucioperca*, reportaron que altas cantidades de aceites vegetales (linaza y cacahuate) produjeron incrementos de la concentración de lípidos en las vísceras, lo que incrementó el índice viscerosomático de los organismos que consumieron dietas con mayor cantidad de aceites vegetales, y observaron que el perfil de ácidos grasos (AG) de la dieta está directamente relacionado con el perfil de AG del pez.

Al utilizar aceites vegetales para la elaboración de dietas acuícolas, es muy importante seleccionar el tipo de fuente de lípidos con el que se desea reemplazar el aceite de pescado, ya que los aceites de distintas fuentes también difieren en el contenido y concentración de AG. En un estudio con *S. aurata*, los organismos fueron alimentados con dietas que contenían aceite de soya, canola o palma (69 % de sustitución de aceite de pescado). Y observaron que el crecimiento en los peces que consumieron dietas elaboradas con aceite de pescado, soya y canola fue similar. Sin

embargo, los organismos alimentados con la dieta que contenía aceite de palma presentaron el menor crecimiento y acumulación excesiva de lípidos en el hígado. Asimismo, estos autores mencionan que el bajo contenido de AG del tipo $\Omega - 3$ en la dieta, se ve reflejado en los AG del hígado y músculo de los peces, por lo que recomiendan que es importante conocer la concentración y tipo de AG saturados e insaturados del aceite con que se desea remplazar el aceite de pescado (Fountoulaki *et al.*, 2009).

Por otra parte, Bell y colaboradores, en 2010, reportaron que en dietas para salmón atlántico es posible sustituir el aceite de pescado al 100 %, con una combinación de aceites vegetales: canola, palma y camelina (razón 5/3/2, respectivamente). Observaron que el aceite vegetal no afectó el crecimiento de los organismos durante un periodo de 55 semanas de estudio, ya que el crecimiento fue similar al crecimiento obtenido en los peces alimentados con dietas elaboradas sólo con aceite de pescado, sin embargo, los autores no estudiaron el efecto de las dietas sobre el estado de salud de los peces que consumieron aceites vegetales, no obstante, si reportaron diferencias en el contenido de lípidos y AG depositados en los peces. Los autores concluyeron que las diferencias en la acumulación y metabolismo de los lípidos de los organismos podrían deberse a factores genéticos, ya que cada grupo era de cohortes y progenitores distintos.

Algunos autoress han observado que la sustitución parcial de aceite de pescado por aceite vegetal puede ocasionar daños en la salud de los peces cultivados. Parpoura y Alexis (2001) estudiaron el efecto de reemplazo parcial (45 %) o total del aceite de pescado en las dietas para juveniles de *Dicentrarchus labrax*, elaboraron 5 dietas con

aceite de pescado, aceite de soya, aceite de olivo o una combinación de aceite de pescado y aceite vegetal. Estos autores reportaron que los aceites vegetales combinados con aceite de pescado en la dieta no afectaron el crecimiento, ni la composición proximal de los organismos durante un periodo de 24 semanas. Sin embargo, también indicaron que las dietas elaboradas sólo con aceite vegetal ocasionaron problemas en la salud de los peces, tales como: degradación y hemorragias en el hígado, así como, hiperplasia en el epitelio branquial. Las patologías mencionadas, también se presentaron en las dietas elaboradas con sustitución parcial de aceite de pescado, sin embargo, el grado y frecuencia de las afecciones fueron menores.

Hematología en Peces

En los peces los órganos encargados de la producción de células sanguíneas varían conforme a la especie y no siempre presentan el mismo tipo y distribución de células sanguíneas, principalmente las que tienen función inmune (Ainsworth, 1992). Los órganos hematopoyéticos en los peces son el riñón y el bazo, sin embargo, en peces cartilaginosos la hematopoyesis también se presenta en el órgano epigonal y el órgano de Leydig. La producción y concentración de las células sanguíneas en las diferentes especies de peces pueden ser alteradas fácilmente por factores, ambientales, antropogénicos, patológicos y nutricionales (Ainsworth, 1992).

La hematología ha demostrado ser una herramienta muy práctica en el campo de la medicina, por brindar orientación y en algunos casos un diagnóstico rápido sobre

el estado de salud de los organismos. Sin embargo, existe muy poca información sobre la hematología en peces, y debido a que no se conocen los valores estándar o base de los parámetros hematológicos y plasmáticos, es difícil diferenciar el estado normal del estado patológico en los peces (Hesser, 1960; Rooney y Roberts, 1972). Independientemente de poder llegar a establecer los parámetros hematológicos normales en determinada especie, la hematología en la acuicultura puede fungir como una herramienta de diagnóstico inmediato monitoreando periódicamente los cambios de dichos parámetros, para poder tomar medidas preventivas y evitar el deterioro de la salud o la muerte de los organismos.

Los parámetros hematológicos y la química sanguínea en los peces son altamente variables, incluso de forma intraespecífica, ya que se han realizado experimentos en organismos de la misma especie desarrollados en diferentes ambientes (vida libre o cultivados). En peces silvestres y cultivados de la especie *Misgurnus anguillicaudatus* se reportaron diferencias en los niveles de glucosa, triglicéridos, hemoglobina y glóbulos rojos (GR), los valores más elevados de estas variables se encontraron en los organismos cultivados. También observaron que altas densidades de cultivo y bajas concentraciones de oxígeno disuelto pueden provocar en el pez mayor producción de GR como un reflejo de la demanda respiratoria (Zhou *et al.*, 2009). Estos mismos autores reportaron que las alteraciones en los niveles de glucosa en los peces cultivados, fueron producidas por el manejo de los organismos y el cautiverio. Coz-Rakovac *et al.*, (2005) en su estudio con organismos de *Dicentrarchus labrax* reportaron que los altos contenidos de triglicéridos en la sangre se debieron al tipo de dieta que consumieron los organismos. En algunos casos las dietas elaboradas

son altamente energéticas y producen acumulación de grasa en el hígado y tejidos adiposos. De la misma manera, altos contenidos de triglicéridos en la sangre pueden indicar afecciones en el hígado como el síndrome de hígado graso, muy frecuente en organismos cultivados de ésta especie.

Por otra parte, el efecto de reemplazar aceite de pescado con aceites vegetales utilizando la hematología como herramienta de monitoreo del estado de salud de los peces, ya ha sido estudiado. En 2009 Díaz-López y colaboradores probaron el efecto del alimento formulado con 50 % aceite vegetal en organismos de *Sparus aurata*, determinaron que la inclusión de aceite vegetal no afectó el crecimiento ni el estado de salud de los organismos, basándose en los niveles de enzimas hepáticas (aminotransferasas y transaminasas) observadas en los peces que consumieron aceite vegetal y los peces alimentados sólo con aceite de pescado, en algunos casos la presencia de enzimas hepáticas en el plasma sanguíneo puede indicar deterioro estructural del hígado. En otro estudio con organismos de *Platichthys stellatus* alimentados con dietas que contenían 50 % aceite de pescado y 50 % aceite de soya, se encontró que el nivel óptimo de lípidos en la dieta fue de 10.62 %. En este estudio los investigadores observaron que al incrementar el porcentaje de lípidos en la dieta hasta 14 % también aumentó el contenido de proteína total (Pt) en el plasma de los peces, sin embargo, con incrementos mayores de lípidos en la dieta observaron concentraciones menores de Pt. Los autores concluyeron que los niveles de lípidos de 6 a 14 % mejoraron la absorción de proteína en los peces, sin embargo, concentraciones mayores de lípidos en la dieta no tuvieron efectos favorables en la utilización de las proteínas (Ding *et al.*, 2009).

Además de los parámetros plasmáticos, también se han estudiado los parámetros hematológicos y algunas características de las células sanguíneas en peces. En 2003 Lin y Shiau estudiaron el efecto del aceite vegetal sobre el sistema inmune, alimentaron a organismos de grouper *Epinephelus malabaricus* con diferentes niveles de lípidos de 0 a 16 % en la dieta. El alimento se elaboró con 50 % aceite de pescado y 50 % aceite de maíz. Determinaron que el nivel óptimo de lípidos en la dieta es del 9 %. La respuesta inmune se evaluó cuantificando los glóbulos blancos en los diferentes grupos y encontraron que los organismos de la dieta sin lípidos tenían menor cantidad de glóbulos blancos, además de ser el grupo con mayor mortalidad. Por lo que estos autores concluyeron que los lípidos en la dieta estimulan el sistema inmune en grouper.

Los parámetros hematológicos en corvina blanca fueron estudiados en 2009 por Bañuelos-Vargas, quien reportó los primeros resultados para ésta especie. El bioensayo consistió en alimentar a juveniles de *A. nobilis* con diferentes niveles de proteína digestible (PD 44, 40, 34, 29 %), 22 % de almidón con adición de un probiótico (*Bacillus* sp), comparados con un control sin probiótico con 49% PD y 12% almidón y observó que los mayores valores de glóbulos rojos (2 a 2.1 millones de células ml^{-1}) se presentaron en organismos alimentados con PD mayor a 34 %. No encontró diferencias significativas en los valores de hematocrito reportados (26.6 a 34.3 %), el mayor contenido de hemoglobina 15 g dL^{-1} se presentó en la dieta con 40 % PD. Con respecto a los parámetros plasmáticos reportó que la proteína total y la glucosa en el plasma aumentaron al disminuir la PD en el alimento.

Objetivo general

Evaluar el efecto de la inclusión de aceites vegetales en la dieta como reemplazo parcial del aceite de pescado, sobre el crecimiento, composición proximal, hematología y química sanguínea de juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis*.

Objetivos particulares

- Determinar el efecto del aceite de maíz y de linaza en la dieta como sustitución del aceite de pescado sobre el peso y la longitud de juveniles de corvina blanca alimentados con las dietas experimentales.
- Determinar la composición química en muestras de pez entero, hígado, músculo, vísceras y heces de corvina blanca, así como también, la composición de las dietas ofrecidas.
- Evaluar la digestibilidad de las distintas dietas formuladas, y la digestibilidad de los nutrientes.
- Medir los niveles de glóbulos rojos (GR), hemoglobina (Hb), hematocrito (Ht) y calcular los valores de volumen corpuscular medio de eritrocitos (VCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y hemoglobina corpuscular media (HCM) en muestras de sangre de juveniles de *A. nobilis*.
- Medir la concentración de glucosa (Glu), albumina (Alb), proteína total (Pt) colesterol (Col) y triglicéridos (Tri) en el plasma de juveniles de corvina blanca y calcular la razón albumina-globulina (Alb/Glb).

Hipótesis

El consumo de aceite de linaza y maíz como reemplazo parcial del aceite de pescado en la dieta para juveniles de *Atractoscion nobilis* producirá crecimiento y contenido proximal similar al obtenido con dietas elaboradas sólo con aceite de pescado, los parámetros hematológicos y química sanguínea obtenidos indicarán el impacto de la dieta en la salud de los peces.

Metodología

El bioensayo se llevó a cabo en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas, de la Universidad Autónoma de Baja California. Los juveniles de corvina blanca, *Atractoscion nobilis*, fueron donados por Hubbs Sea World Research Institute, California, Estados Unidos. Los peces se distribuyeron en 5 tratamientos, con tres replicas cada uno.

Dietas experimentales

Formulación de Alimento: Las dietas experimentales se formularon con niveles similares de energía (4950 cal g^{-1}), proteína (52 %), lípidos (18 %), almidón (10 %) y ceniza (13 %), utilizando como fuente principal de proteína harina de pescado (compañía canadiense Silver Cup), sin embargo, también se incluyó 4.5 % de proteína de maíz y 4.5 % de proteína de soya. El 50 % del total de los lípidos de la dieta fue aportado por la harina de pescado, para el 50 % restante se utilizó aceite de maíz (100 % puro, Mazola) o una combinación de aceite orgánico de linaza (100 % puro, Spectrum) y de maíz, según el tratamiento.

Las dietas experimentales fueron nombradas según el tipo de aceite con el que se elaboraron: Tratamiento P100 elaborado solamente con aceite de pescado, tratamiento L75/M25 con 75 % aceite de linaza y 25 % aceite de maíz, tratamiento L50/M50 50% aceite de linaza 50% aceite de maíz, tratamiento 25/75 25% aceite de linaza 75%

aceite de maíz y el tratamiento M100 elaborado sólo con aceite de maíz. La principal fuente de carbohidratos en las dietas fue almidón de maíz.

Los ingredientes de cada tratamiento fueron mezclados hasta obtener una base homogénea de las diferentes harinas, después se agregaron los ingredientes líquidos, en primer lugar el aceite de pescado, después el almidón y por último la gelatina. El almidón y la gelatina fueron disueltos en agua, después se les dio una ligera cocción en un horno de microondas, una vez gelatinizados se incorporaron a la mezcla. La masa obtenida se peletizó y después se secó durante 12 horas a 50 °C en un horno (LINDBERG/BLUE). El alimento seco fue triturado mecánicamente hasta obtener un tamaño aproximado de 4 mm. En la **tabla I** se puede observar la formulación y contenido químico proximal de las diferentes dietas ensayadas.

Tabla I. Ingredientes de las dietas para juveniles de corvina blanca, *A. nobilis*, en las cuales se realizó un reemplazó parcial de aceite de pescado por aceites vegetales, valores correspondientes como g/100g y composición proximal de las dietas.

Ingrediente	P100	L75/M25	L50/M50	L25/M75	M100
Harina pescado	53.50	53.50	53.50	53.50	53.50
Proteína de maíz	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
Proteína de soya	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
Almidón	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Aceite de pescado	10.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Aceite de maíz	0.00	0.00	0.00	0.00	8.00
L75/M25	0.00	8.00	0.00	0.00	0.00
L50/M50	0.00	0.00	8.00	0.00	0.00
L25/M75	0.00	0.00	0.00	8.00	0.00
Micronutrientes *	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50
Contenido Químico Proximal					
Energía (cal g⁻¹)	4976 ± 6	4979 ± 14	4962 ± 16	4956 ± 13	4992 ± 16
% Proteína	52.9 ± 2.8	52.8 ± 2.6	52.5 ± 2.2	52.6 ± 2.2	52.8 ± 2.5
% Lípidos	18.0 ± 0.3	18.6 ± 0.9	18.1 ± 0.4	18.2 ± 0.5	18.0 ± 0.7
% Almidón	10.4 ± 1.0	10.4 ± 0.1	10.6 ± 0.2	10.6 ± 1.3	10.8 ± 0.9
% Ceniza	13.6 ± 0.2	13.6 ± 0.1	13.6 ± 0.4	13.5 ± 0.1	13.6 ± 0.3

Resultados media ± desviación estándar. * Mezcla de micronutrientes: mezcla de minerales, mezcla de vitaminas, cloruro de colina, α-tocoferol, ácido ascórbico, gelatina, nutrikelp, celulosa y Cr₂O₃ como marcador de digestibilidad.

Sistema de cultivo

Durante el periodo experimental, los juveniles de corvina se mantuvieron en un sistema semi-abierto en 15 tanques plásticos de 60 litros de capacidad, en cada tanque se colocaron 9 peces (peso inicial de 30 g). Los tanques se cubrieron con rejillas plásticas (luz de malla 4 mm). El sistema de cultivo fue alimentado con agua de mar filtrada a 20 y 5 µm (filtros de cartucho), con un flujo de 1.5 L min⁻¹, el agua se pasó por un equipo de luz ultravioleta para mantener la calidad del agua en el cultivo. La temperatura del agua se mantuvo alrededor de 20 °C, las salinidad y oxígeno disuelto

se mantuvieron a 35 ‰ y 6 mg O₂ L⁻¹ respectivamente, el fotoperiodo del cultivo fue de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

Los peces se aclimataron al sistema de cultivo durante dos semanas, y fueron alimentados a saciedad dos veces al día (8:00 y 16:00 horas), registrando diariamente el consumo de alimento de cada tratamiento; el experimento tuvo una duración de 13 semanas. Los desechos de los peces y el exceso de alimento fueron retirados diariamente para evitar efectos nocivos por la descomposición de materia orgánica.

Técnicas de muestreo

- i. **Organismos:** Para realizar las biometrías de los organismos y la recolección de las muestras para los análisis proximales, los peces fueron anestesiados con 200 mg de aceite de clavo (SIGMA-ALDRICH) diluidos en 5 ml de etanol. La mezcla de aceite y etanol se agregó en un recipiente plástico con 6 litros de agua de mar con aireación, posteriormente los peces fueron anestesiados durante 1 minuto. A lo largo del experimento se realizaron tres biometrías, al inicio, durante la quinta semana y al final del bioensayo. Al finalizar el experimento se colectaron muestras de pez entero, músculo, hígado y vísceras de cada tanque para realizar los análisis proximales, las diferentes muestras se almacenaron a - 20 °C hasta el día de su análisis. También se muestrearon dos peces de cada tanque para determinar el índice hepatosomático.

ii. Heces: Fueron colectadas para determinar el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) del alimento y la digestibilidad de la energía y nutrientes. Durante las últimas cuatro semanas los peces fueron alimentados con dietas marcadas, adicionadas con 1 % de óxido de cromo (Cr_2O_3). Los peces se aclimataron a las dietas marcadas durante una semana. Posteriormente se inició la recolección de heces, que fueron extraídas con un sifón (2 mm de diámetro) 30 minutos después del segundo periodo de alimentación (16 horas), las que se realizaron con intervalos de 20 minutos entre cada toma de muestra (3 colectas). Las heces de cada tanque fueron recuperadas en un tamiz para evitar el lavado de nutrientes, las muestras se almacenaron en frascos de plástico de 30 ml (Nalgene) a $-20\text{ }^\circ\text{C}$.

iii. Hígado para análisis de glicógeno: Al finalizar el experimento, después del último periodo de alimentación se recolectaron cuatro peces de cada tanque, los cuales fueron sacrificados al momento para extraerles el hígado. Los hígados se congelaron inmediatamente con hielo seco y después se almacenaron a $-70\text{ }^\circ\text{C}$ para evitar la degradación del glicógeno (Moreira *et al.*, 2008).

iv. Sangre: La muestra se extrajo por punción cardíaca a 6 peces de cada tanque. Las muestras se tomaron con jeringas de 1 ml (BD Ultra-Fine), las que fueron previamente cargadas con 0.12 ml de solución anticoagulante EDTA al 10 %, procurando obtener el volumen suficiente de muestra (entre 0.24 y 0.3 ml), para mantener una proporción aproximada 2:1 de sangre y anticoagulante. Las muestras de sangre fueron analizadas inmediatamente, para obtener los

parámetros hematológicos y la química sanguínea de los juveniles de corvina.

Análisis y Cálculos

- i. **Parámetros de crecimiento:** Los resultados que se generaron al realizar las biometrías, peso (g) y longitud (cm) de cada pez, fueron usados para evaluar el crecimiento de los organismos como efecto del alimento consumido. Con los datos obtenidos se calcularon los siguientes parámetros:

Peso ganado

$$\text{Peso ganado} = P_{final} - P_{inicial}$$

Tasa de crecimiento específico (TCE)

$$TCE = \left(\left(\frac{P_f - P_i}{Num\ Org} \right) \div T \right) \times 100$$

P_i = Peso inicial

P_f = Peso final

T = Días de experimento

Índice hepatosomático (IH)

$$IH = \left(\frac{\text{peso hígado}}{\text{peso pez}} \right) \times 100$$

Índice viscerosomático (IV)

$$IV = \left(\frac{\text{peso vísceras}}{\text{peso pez}} \right) \times 100$$

Nota: las vísceras o paquete visceral sólo incluyeron el estomago, ciegos pilóricos, intestino, hígado y bazo.

Consumo de alimento

$$\text{Consumo} = \left(\frac{\text{alimento consumido}}{\text{días de experimento}} \right) \div \text{Num. peces}$$

Tasa de conversión alimenticia (TCA)

$$TCA = \left(\frac{\text{alimento consumido}}{\text{peso ganado}} \right)$$

Razón de eficiencia proteica (REP)

$$REP = \left(\frac{\text{peso ganado}}{\text{proteína consumida}} \right)$$

- ii. **Químico proximal:** Las muestras congeladas de pez entero, hígado, músculo, vísceras, alimento y heces se secaron a 50 °C por 12 horas, para después realizar los análisis químicos.

Humedad: Las muestras se secaron en un horno (LINDBERG/BLUE) a 103 °C durante 6 horas, y el porcentaje de humedad en la muestra se calculó por gravimetría en balanza analítica (SARTORIUS) precisión 0.1 mg.

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \left(\frac{\text{peso seco}}{\text{peso húmedo}} \right) \times 100$$

Proteína: La estimación del contenido de proteína se realizó utilizando el método micro-kjeldahl, el cual determina la cantidad de nitrógeno total en la muestra. Este método consta de tres fases: Digestión, destilación y titulación. La digestión se realizó con H₂SO₄, después la muestra fue destilada (destilador 65000, LABCONCO) y por último se tituló la muestra con HCl 0.02 N, determinando el porcentaje de nitrógeno de la muestra y con éste el contenido protéico (AOAC, 1995).

$$\% \text{ Nitrógeno} = \left(\frac{\text{HCL (ml)} \times N \times 0.014 \times 100}{\text{muestra (g)}} \right)$$

N= normalidad de HCl

$$\% \text{ Proteína} = (\% \text{ Nitrógeno} \times 6.25)$$

Lípidos: El contenido de lípidos de las diferentes muestras fue determinado según el método modificado de Folch *et al* (1995), el cual consiste en extraer los lípidos con una mezcla de solventes, cloroformo/metanol (razón 2:1), la mezcla de lípidos y solventes se evaporó en un incubador (COLE-PARMER), el porcentaje de lípidos se calculó con la siguiente formula.

$$\% \text{ Lípidos} = \left(\frac{\text{peso extracto lípidos}}{\text{peso muestra}} \right) \times 100$$

Cenizas: Las muestras fueron calcinadas a 550 °C durante 8 horas para calcular el porcentaje de ceniza por gravimetría (AOAC, 1995).

$$\% \text{ Ceniza} = \left(\frac{\text{peso residuo}}{\text{peso muestra}} \right) \times 100$$

Glicógeno: El contenido de glicógeno en el hígado fue determinado con la metodología de Plummer (1987), la cual consiste en degradar el glicógeno hasta glucosa. Primero se digirió la muestra en KOH al 30 %, para después centrifugar en frío (4 °C), el pellet obtenido se disolvió nuevamente en agua y se le agregó 1 ml de HCl 1.2 M. Las muestras estuvieron en digestión ácida por dos horas en baño maría (100 °C aproximadamente). Después las muestras fueron neutralizadas y aforadas a 5 ml, el contenido de glucosa se determinó según las especificaciones del kit (Liquid Glucose Oxidase, POINTE SCIENTEFIC) la absorbancia de las muestras se leyó a 520 nm espectrofotómetro (DR 5000, HACH).

$$\% \text{ Glicógeno} = \left(\frac{\text{glucosa}(\text{mg dL}^{-1}) \times 0.5 \times 0.9 \times 0.001}{\text{muestra}(\text{g})} \right) \times 100$$

Almidón: Las dietas experimentales y las heces colectadas fueron analizadas para determinar el contenido de almidón según el método descrito por Thivend *et al.* (1972). Consiste en someter las muestras a alta presión y temperatura, 0.05g muestra y 25 ml agua destilada, en un esterilizador MARKET FORGE (STME-E). En la segunda fase se realiza una digestión enzimática con Amilogucosidasa de *Aspergillus niger* (SIGMA-ALDRICH) durante 2 horas, el contenido de glucosa en la muestra se determinó según las especificaciones del kit de glucosa (Liquid Glucose Oxidase, POINTE

SCIENTEFIC) la absorbancia de las muestras se leyó a 520 nm espectrofotómetro (DR 5000, HACH).

$$\% \text{ Almidón} = \left(\frac{\text{glucosa (mg dL}^{-1}) \times 0.001 \times 0.9}{\text{muestra (g)}} \right) \times 100$$

Contenido energético: El contenido calórico de las diferentes muestras se calculó en base a su contenido de nutrientes y de acuerdo al valor calórico propuesto por Halver y Hardy (2002); Proteína 5,640.5 cal g⁻¹, lípidos 9,441 cal g⁻¹ y extracto libre de nitrógeno (ELN) 4,111 cal g⁻¹. Únicamente el contenido energético de las dietas fue analizado con bomba calorimétrica.

iii. Digestibilidad *in vivo* con óxido de cromo: Se determinó el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de las dietas adicionadas con óxido de cromo según el método modificado de Furukawa y Tsukahara (1966). Las muestras de alimento y de heces, fueron digeridas en 5 ml de ácido nítrico a 120 °C por 120 minutos, después en 3 ml de ácido perclórico a 203 °C por 60 minutos, en digestor micro-kjeldahl (60011, LABCONCO). El digerido se aforó a 100 ml con agua destilada y se leyó la absorbancia a 350 nm en espectrofotómetro (DR 5000, HACH). El cálculo del CDA se estimó de acuerdo a la ingesta de las dietas y la producción de heces según la metodología de Hardy y Barows (2002).

$$CDA = \left(1 - \frac{Cr \text{ alimento}}{Cr \text{ heces}} \right) \times 100$$

Cr alimento = % de cromo en el alimento.

Cr heces = % de cromo en las heces.

La digestibilidad de los nutrientes (lípidos, proteína, almidón) y energía de las dietas experimentales se estimó con la siguiente fórmula.

$$CDA_{Nut} = 100 - \left[\left(\frac{Cr\ alimento}{Cr\ heces} \times \frac{Nut. heces}{Nut. alimento} \right) \times 100 \right]$$

iv. Hematológicos: Los parámetros hematológicos fueron determinados de la siguiente manera:

Conteo de glóbulos rojos: GR (cel ml^{-1}), se realizó con la dilución de 20 μl de sangre en solución Dacie's, razón 1:50 (De Pedro *et al*, 2004), después se colocó la muestra a una cámara Neubauer (HAUSSER SCIENTIFIC), posteriormente se tomaron fotografías digitales con el programa Pax-It (objetivo 100X). Los glóbulos rojos de 5 celdillas de la cámara Neubauer fueron contabilizados a partir de las fotografías digitalizadas, para estimar la cantidad de GR por mililitro se multiplicó el conteo de células por el factor de dilución de la tinción Dacie's (50) y nuevamente por 50, ya que el volumen de la cámara (0.02 ml) corresponde a una cincuentava parte de un mililitro.

$$Células\ por\ ml = \left(\sum\ células \right) \times 50 \times 50$$

Hematocrito: Ht (%) se estimó con el método de micro-hematocrito, centrifugando la sangre a 10,000 rpm durante 10 minutos y midiendo en un lector para capilares de hematocrito.

Hemoglobina: Hb (g dl^{-1}) se determinó tomando una alícuota de 10 μL de sangre, siguiendo el desarrollo del kit de hemoglobina POINTE SCIENTIFIC.

Volumen corpuscular medio de eritrocitos: VCM fue expresado en fentolitros (fL) y calculado de la siguiente manera:

$$MCV = \left(\frac{Ht \times 10}{GR} \right)$$

Ht= hematocrito. GR= conteo de glóbulos rojos.

Concentración de hemoglobina corpuscular media: CHCM expresada en g dL⁻¹ y se calculó empleado la formula siguiente:

$$MCHC = \left(\frac{Hb \times 100}{Ht} \right)$$

Hb= hemoglobina.

Ht= hematocrito.

Hemoglobina corpuscular media: HCM fue expresada en picogramos (pg) y se determinó empleando la formula que se muestra a continuación:

$$MCH = \left(\frac{Hb \times 10}{GR} \right)$$

Hb= hemoglobina.

GR= conteo de glóbulos rojos.

Química sanguínea: Para analizar los parámetros plasmáticos de los organismos, fue necesario centrifugar las muestras de sangre a 12,000 rpm durante 5 minutos a 4 °C (centrifuga EPPENDORF, 5415R) (Atencio-García *et al*, 2007), para obtener el plasma y calcular la concentración de proteína total (Pt), glucosa (Glu), albumina (Alb), colesterol (Col) y triglicéridos (Tri) en la sangre. La Alb (g dL⁻¹), Pt (g dL⁻¹) y Glu (mg dL⁻¹) fueron determinados según el desarrollo de los kit POINTE SCIENTIFIC. También se calculó la relación albumina/globulina en el plasma de los peces de la manera siguiente:

$$\text{Globulina} = (Pt - Alb) \qquad Alb/Glb = \left(\frac{\text{Albumina}}{\text{Globulina}} \right)$$

Las muestras de plasma fueron enviadas a una empresa privada, Laboratorios Medel, Ensenada, Baja California. Donde se les determinó la concentración de colesterol (mg dL^{-1}) y triglicéridos (mg dL^{-1}) según el desarrollo de su respectivo kit (CLINIQA) empleando un equipo ATAC 8000 de ELAN DIAGNOSTICS 35000721.

Análisis estadístico

Los resultados fueron reportados como media \pm desviación estándar, y se analizaron con la prueba ANOVA de una vía. Las diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos se obtuvieron mediante comparaciones múltiples de Tukey. La normalidad de los datos se comprobó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de las varianzas se evaluó usando la prueba de Levene. Los resultados que no cumplieron con las pruebas de normalidad y/o varianza se reportaron únicamente con el valor de sus medianas, obtenidas mediante análisis no paramétrico de Kruskal Wallis. El nivel de significancia en las pruebas estadísticas fue con un $\alpha = 0.05$.

Resultados

Parámetros de crecimiento

Las dietas elaboradas para juveniles de corvina fueron bien aceptadas por los organismos, en todos los tratamientos observamos 100 % de sobrevivencia (tabla II). Los juveniles de corvina al inicio del experimento tenían talla promedio de 13 cm y alrededor de 30 g de peso, al final del experimento las dietas con diferentes combinaciones de aceites produjeron diferencias en el crecimiento de los organismos.

En la tabla II se muestran los resultados del rendimiento de las dietas experimentales. La longitud ganada varió de 5.2 a 4.5 cm, observándose que los peces con el tratamiento P100 mostraron la mayor longitud. Los peces alimentados con L25/M75 fueron los de menor longitud, sin embargo, se puede advertir que sólo son estadísticamente menores a los peces de los tratamientos P100 y L75/M25 ($P < 0.05$). En relación al peso ganado, los peces alimentados con la dieta elaborada con 100 % aceite de pescado (P100) y el tratamiento L75/M25 presentaron mayor crecimiento (51.9 y 51.6 g, respectivamente) comparado con los organismos de la dieta L25/M75, con menor crecimiento (44.3 g). Además, se observó la misma tendencia en el peso ganado y la longitud ganada, ya que los peces alimentados con L50/M50 y M100 no mostraron diferencias con el resto de los grupos experimentales, tampoco se encontraron diferencias en la sobrevivencia de los tratamientos (100 %).

La tasa de crecimiento específico (TCE) varió entre 3.2 y 2.7 % pez⁻¹ día⁻¹ y la tendencia de las diferencias entre los tratamientos es similar a la obtenida en longitud ganada y peso ganado. Los mejores resultados de TCE se presentaron en los

tratamientos P100 y L75/M25 (3.2 % pez⁻¹ día⁻¹ en ambos) los cuales sólo son diferentes de L25/M75 con la menor TCE 2.7% pez⁻¹ día⁻¹ ($P<0.05$) (tabla II).

Los resultados obtenidos para los índices hepatosomático y viscerosomático no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, los intervalos observados en dichos índices fueron los siguientes: IH 2.3 - 2.0 % y en IV fue de 6.9 - 5.9 %. De la misma manera el consumo de alimento entre los organismos de los diferentes tratamientos se mantuvo entre 0.87 y 0.78 g pez⁻¹ día⁻¹ (L75/M25 y M100, respectivamente). Tampoco se observaron diferencias significativas en la tasa de conversión alimenticia (TCA) donde los valores más elevados se reportaron en los tratamientos L50M50 y L25/M75 (1.7 en ambos) y el menor valor (1.4) se obtuvo en M100 (tabla II).

La cantidad de proteína consumida se evaluó calculando la razón de eficiencia protéica (REP) en los tratamientos experimentales, y presentaron diferencias significativas entre ellos. Los valores de REP se mantuvieron entre 2.0 y 1.9, los mejores resultados se aparecieron en los peces con el tratamiento L75/M25 y la razón más baja en el grupo alimentado con la dieta L50/M50, sólo se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) entre los tratamientos antes mencionados. El resto de los grupos en estudio no presentaron diferencias con los tratamientos antes mencionados (tabla II).

Tabla II. Parámetros de crecimiento en juveniles de corvina blanca *A. nobilis*, alimentados con dietas elaboradas con aceite de pescado, linaza y maíz; pescado y maíz o sólo aceite de pescado, durante 13 semanas de experimentación.

Parámetro	P100	L75/M25	L50/M50	L25/M75	M100	P
Longitud inicial (cm)	13.1 ± 0.3	13.0 ± 0.3	13.0 ± 0.4	13.1 ± 0.4	13.0 ± 0.3	ns
Longitud ganada (cm)	5.2 ± 0.2 ^a	5.2 ± 0.2 ^a	4.7 ± 0.2 ^{ab}	4.5 ± 0.3 ^b	5.0 ± 0.2 ^{ab}	<0.05
Peso inicial (g)*	30.8	30.9	30.9	30.6	30.0	ns
Peso ganado (g)	51.9 ± 1.1 ^a	51.6 ± 2.1 ^a	45.0 ± 2.9 ^{ab}	44.3 ± 3.5 ^b	48.9 ± 2.8 ^{ab}	<0.05
Sobrevivencia (%)	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	100 ± 0.0	ns
TCE (% pez ⁻¹ día ⁻¹)	3.2 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.1 ^a	2.8 ± 0.2 ^{ab}	2.7 ± 0.2 ^b	3.0 ± 0.2 ^{ab}	<0.05
IH (%)	2.1 ± 0.5	2.3 ± 0.4	2.1 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.3	ns
IV (%)	6.2 ± 1.2	6.8 ± 1.2	5.9 ± 0.4	6.3 ± 1.1	6.9 ± 0.9	ns
Consumo (g pez ⁻¹ día ⁻¹)	0.85 ± 0.03	0.87 ± 0.01	0.82 ± 0.02	0.82 ± 0.04	0.78 ± 0.09	ns
TCA	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.2	ns
REP*	1.9 ^{ab}	2.0 ^a	1.9 ^b	2.0 ^{ab}	2.0 ^{ab}	<0.05

Superíndices distintos en la misma línea indican diferencias estadísticas. Resultados media ± desviación estándar. Tasa de crecimiento específico (TCE), Índice hepatosomático (IH), Índice viscerosomático (IV), Tasa de conversión alimenticia (TCA), Razón de eficiencia proteica (REP). P=probabilidad, ns=no significativo. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

Contenido químico proximal

Las dietas ofrecidas a los juveniles de *A. nobilis* promovieron diferencias en el contenido energético y acumulación de nutrientes de los organismos. En la tabla III se muestra el contenido proximal de pez entero, donde la energía varió de 5362 a 5158 cal g⁻¹ (L50/M50 y P100, respectivamente). El contenido de energía fue mayor en los peces alimentados con L50/M50 y M100, y son estadísticamente más altos en contenido de energía que los peces alimentados con las dietas P100 y L75/M25 ($P < 0.05$).

Tabla III. Contenido proximal en juveniles de corvina blanca, muestras de pez entero, alimentados durante 13 semanas con dietas que incluían aceite de pescado, maíz y linaza; aceite de pescado y maíz o sólo aceite de pescado.

Tratamiento	Energía cal g ⁻¹	% Proteína	% Lípidos	% Ceniza*
P100	5158 ± 38 ^c	65.6 ± 0.9 ^c	11.9 ± 0.6 ^c	14.3 ^a
L75/M25	5212 ± 63 ^{bc}	66.0 ± 1.7 ^{bc}	12.6 ± 0.6 ^{bc}	14.2 ^a
L50/M50	5362 ± 65 ^a	66.6 ± 0.8 ^{bc}	14.4 ± 0.8 ^a	13.3 ^b
L25/M75	5281 ± 85 ^{ab}	67.9 ± 1.4 ^{ab}	13.2 ± 0.8 ^b	13.7 ^{ab}
M100	5311 ± 14 ^a	68.7 ± 0.8 ^a	13.2 ± 0.7 ^b	14.1 ^{ab}
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. Resultados media ± desviación estándar. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

El contenido de proteína en pez entero varió de 68.7 a 65.6 %, el mayor contenido de proteína se presentó en los organismos con la dieta M100 que son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) a los peces del tratamiento P100, donde se observó el menor porcentaje de proteína en el cuerpo. También, se puede observar que los peces con las dietas L50/M50, L75/M25 y L25/M75 no presentaron diferencias en el nivel de proteína corporal.

El contenido de lípidos en los peces del grupo L50/M50 (14.4 %) fue estadísticamente mayor al resto de los tratamientos estudiados ($P < 0.05$). Seguidos por los peces alimentados con las dietas L25/M75 y M100 con un nivel de lípidos de 13.2 %, los grupos antes mencionados fueron estadísticamente mayores ($P < 0.05$) a los peces alimentados con la dieta 100 % aceite de pescado (P100) donde se observó la menor concentración de lípidos 11.9 %.

El porcentaje de ceniza en pez entero varió de 14.3 a 13.3 %, las dietas que produjeron el mayor contenido de ceniza fueron P100 y L75/M25, y la que promovió

menor cantidad de ceniza en el cuerpo fue la L50/M50, las diferencias estadísticas observadas se presentaron entre los tratamientos antes mencionado con una $P < 0.05$. Los peces alimentados con L25/M75 y M100 no mostraron diferencias con el resto de los grupos (tabla III).

En la tabla IV se observa la acumulación de nutrientes y energía en el músculo de corvina blanca. La energía en este tejido varió de 5623 a 5481 cal g^{-1} . Los peces con los tratamientos P100, L75/M25 y L50/M50 presentaron la mayor cantidad de energía en músculo y los de menor concentración fueron los de la dieta L25/M75 ($P < 0.05$). Los organismos alimentados con la dieta M100 no presentaron diferencias con el resto de los grupos experimentales.

Tabla IV. Contenido proximal en músculo de juveniles de *A. nobilis* alimentados durante 13 semanas con dietas que contenían 50 % de aceite vegetal; aceite de linaza y/o maíz.

Tratamientos	Energía cal g^{-1} *	% Proteína	% Lípidos*	% Ceniza
P100	5623 ^a	86.7 ± 2.1 ^{ab}	7.8	5.1 ± 0.4 ^{ab}
L75/M25	5586 ^a	87.5 ± 1.3 ^a	6.3	4.9 ± 0.4 ^b
L50/M50	5591 ^a	86.6 ± 1.0 ^{ab}	7.1	5.2 ± 0.2 ^{ab}
L25/M75	5481 ^b	85.2 ± 0.7 ^b	5.5	5.4 ± 0.4 ^a
M100	5591 ^{ab}	85.5 ± 0.6 ^{ab}	7.2	5.1 ± 0.2 ^{ab}
P	<0.05	<0.05	ns	<0.05

Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas. Resultados media ± desviación estándar. P =probabilidad, ns=no significativo. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

El contenido de proteína en las muestras de músculo fue mayor al 85 % en todos los grupos en estudio. Los peces con mayor concentración de proteína en el músculo recibieron la dieta L75/M25 y los que tuvieron menor contenido se alimentaron

con la dieta L25/M75 ($P < 0.05$). Los grupos P100, L50/M50 y M100 no presentaron diferencias significativas con el resto de los tratamientos (tabla IV).

La concentración de lípidos en el músculo varió de 7.8 a 5.5 % y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. En relación al porcentaje de ceniza en el tejido muscular, se observó que los peces con el tratamiento L25/M75 mostraron la mayor concentración 5.4 %, y el menor porcentaje de ceniza 4.9 se presentó en los organismos con la dieta L75/M25, las únicas diferencias estadísticas se observaron en los tratamientos antes mencionados ($P < 0.05$). El resto de los grupos experimentales (P100, L50/M50 y M100) no mostraron diferencias entre sí (tabla IV).

Tabla V. Contenido químico proximal de hígado de *A. nobilis* alimentado con dietas que incluían 50 % aceite vegetal (linaza y/o maíz) durante un periodo experimental de 13 semanas.

Tratamientos	Energía cal g ⁻¹	% Proteína*	% Lípidos	% Glicógeno	% Ceniza
P100	6825 ± 199	25.9	41.7 ± 5.8	31.3 ± 8.0	2.8 ± 0.1
L75/M25	7020 ± 373	24.1	45.2 ± 6.0	27.6 ± 6.7	2.6 ± 0.3
L50/M50	6942 ± 204	26.5	47.1 ± 3.0	25.6 ± 5.2	2.7 ± 0.1
L25/M75	6912 ± 346	27.7	44.6 ± 5.1	27.6 ± 6.3	2.8 ± 0.2
M100	7114 ± 317	24.5	48.1 ± 4.1	25.6 ± 5.1	2.5 ± 0.2

Resultados media ± desviación estándar. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

El contenido químico proximal del hígado en juveniles de corvina blanca no presentó diferencias en ninguna de las variables probadas (tabla V). La energía en el hígado varió de 7114 a 6825 cal g⁻¹, el porcentaje de proteína se mantuvo entre 27.7 y 24.1 %, mientras que la acumulación de lípidos en el hígado fue mayor al 40 % en todos los tratamientos. Por otra parte el mayor contenido de glicógeno del hígado 31.3 % se presentó en los peces alimentados con la dieta P100, sin embargo, no se encontraron diferencias con el resto de los tratamientos donde se observaron valores

entre 27.6 y 25.6 %. De la misma manera el contenido de energía y porcentaje de proteína, lípidos y ceniza en las vísceras de corvina blanca no presentaron diferencias estadísticas entre los grupos experimentales. La energía en vísceras se mantuvo entre 5779 y 5626 cal g⁻¹, el contenido de proteína en las vísceras de corvina vario de 38.3 a 33.7 % y el mayor contenido de proteína se presentó en el tratamiento L50/M50 aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Los lípidos de las vísceras no presentaron diferencias o una tendencia clara y se mantuvieron alrededor del 22 %, asimismo el porcentaje de ceniza fluctuó alrededor del 4 % entre los distintos grupos experimentales.

Tabla VI. Contenido proximal en muestras de vísceras de corvina blanca alimentada con dietas elaboradas con aceite de pescado, linaza y maíz durante 13 semanas.

Tratamientos	Energía cal g⁻¹	% Proteína*	% Lípidos	% Ceniza*
P100	5680 ± 96	37.4	20.6 ± 2.5	4.5
L75/M25	5626 ± 166	33.7	21.8 ± 3.1	4.1
L50/M50	5779 ± 33	38.3	23.5 ± 1.7	3.4
L25/M75	5766 ± 160	34.6	24.1 ± 3.3	4.1
M100	5684 ± 71	36.3	21.7 ± 3.1	4.4

Resultados media ± desviación estándar. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

Digestibilidad *in vivo*

Para evaluar la digestibilidad del alimento y los nutrientes con el análisis de digestibilidad *in vivo* fue necesario realizar análisis proximales de las dietas experimentales y de las heces de corvina. Las dietas fueron formuladas con contenido similar de proteína, lípidos, almidón, ceniza y energía (tabla I), y por lo tanto no se encontraron diferencias entre los componentes proximales de las dietas; el contenido de energía fue aproximadamente de 4950 cal g⁻¹, proteína 52 %, lípidos 18 %, almidón

10 % y cenizas 13 %. Durante las últimas cuatro semanas del cultivo los peces se alimentaron con dietas antes mencionadas, que además fueron adicionadas con 1 % de marcador (Cr_2O_3) para el análisis de digestibilidad.

El contenido proximal de las heces producidas con las dietas marcadas se muestra en la tabla VII. Con respecto a la energía en las heces el tratamiento P100 presentó el mayor valor 3532 cal g^{-1} y fue estadísticamente diferente al resto de los tratamientos ($P=0.05$). La cantidad de energía de 3377 a 3373 cal g^{-1} se observó en los peces con las dietas L75/M25 y L25/M75, y el menor contenido de energía en heces se obtuvo con el tratamiento L50/M50. La energía en heces de los peces alimentados con la dieta M100 no mostró diferencias con los resultados de los tratamientos L75/M25, L50/M50 y L25/M75.

Tabla VII. Contenido proximal en heces de juveniles de *A. nobilis* alimentados durante 13 semanas con dietas que contenían aceite de linaza y maíz como sustituto parcial (50 %) del aceite de pescado.

Tratamientos	Energía cal g^{-1}	% Proteína	% Lípidos	% Almidón	% Ceniza*
P100	3532 ± 55^a	14.4 ± 0.2^b	10.8 ± 0.7^a	5.2 ± 0.4	33.2^b
L75/M25	3367 ± 26^b	15.5 ± 1.2^{ab}	7.4 ± 0.7^c	5.6 ± 0.6	33.5^b
L50/M50	3289 ± 59^c	15.2 ± 0.5^{ab}	7.4 ± 0.6^c	5.6 ± 0.6	35.4^{ab}
L25/M75	3373 ± 39^b	15.3 ± 0.5^{ab}	7.6 ± 0.3^c	5.3 ± 0.7	33.0^b
M100	3359 ± 44^{bc}	16.3 ± 0.6^a	9.0 ± 0.5^b	5.3 ± 0.6	36.2^a
P	0.05	0.05	0.05	ns	<0.05

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas. Resultados media \pm desviación estándar. P =probabilidad, ns=no significativo. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

El contenido de proteína en las heces varió entre 16.3 y 14.4 %, mostrando el mayor contenido las heces de los peces con la dieta M100 y menor en los peces con la dieta 100 % aceite de pescado ($P=0.05$). Las heces de los peces alimentados con las

diferentes combinaciones de aceite de linaza y maíz (L75/M25, L50/M50 y L25/M75) no mostraron diferencias estadísticas en el porcentaje de proteína.

El contenido de lípidos en las heces fue mayor en los peces con el tratamiento P100 seguido de los alimentados con la dieta M100 (10.8 y 9 %, respectivamente), estos tratamientos fueron diferentes entre sí y estadísticamente mayores al resto de los tratamientos ($P= 0.05$). De la misma manera que en el contenido de proteína en heces de los peces alimentados con las diferentes combinaciones de aceite de linaza y maíz (L75/M25, L50/M50 y L25/M75) no mostraron diferencias estadísticas entre sí y presentaron el menor contenido de grasa en las heces (tabla VII).

El contenido de almidón en las heces (tabla VII) fue similar entre los tratamientos y se mantuvo entre 5.6 y 5.2 %. Con respecto al contenido de ceniza en las heces la concentración más elevada se presentó en el tratamiento M100 con 36.2 % y fue diferente a la ceniza observada en los tratamientos P100, L75/M25 y L25/M75 (33.2, 33.5 y 33.0 respectivamente) ($P<0.05$). Sin embargo, el contenido de ceniza en las heces de los organismos que consumieron la dieta con 50 % de aceite de linaza y de maíz (L50/M50) no presentaron diferencias con el resto de los grupos.

En el análisis de digestibilidad se observó que todas las dietas presentaron un coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) mayor al 70 %. Los resultados de CDA de las dietas y la digestibilidad de nutrientes se muestran en la tabla VIII, donde se observó que el CDA de la dieta P100 fue mayor con 74.7 % y diferente del CDA en los tratamientos L25/M75 y L50/M50 (73.3 y 72.8 %, respectivamente). En el tratamiento L75/M25 se presentó uno de los mayores valores de CDA (74.1 %), los resultados de

L75/M25 únicamente son diferentes a los del tratamiento L50/M50 donde se observó el menor CDA entre las dietas probadas ($P<0.05$).

Tabla VIII. Coeficiente de digestibilidad de dietas para *A. nobilis* elaboradas con aceite de linaza y maíz o aceite de maíz como reemplazo parcial (50 %) de los lípidos en la dieta. Digestibilidad de la energía y nutrientes de las dietas experimentales.

Tratamiento	% CDA	Energía (cal g ⁻¹)	% Proteína	% Lípidos	% Almidón
P100	74.7 ± 0.5 ^a	83 ± 0.3 ^{bc}	92.8 ± 0.1 ^a	84.3 ± 1.1 ^d	87.9 ± 1.0
L75/M25	74.1 ± 0.2 ^{ab}	83.5 ± 0.1 ^a	92.0 ± 0.6 ^b	89.4 ± 1.0 ^a	86.5 ± 1.5
L50/M50	72.8 ± 1.1 ^c	83 ± 0.3 ^{bc}	91.9 ± 0.2 ^b	88.5 ± 0.9 ^{ab}	85.6 ± 1.5
L25/M75	73.3 ± 0.2 ^{bc}	82.7 ± 0.2 ^c	91.8 ± 0.3 ^b	88.2 ± 0.5 ^b	86.2 ± 1.8
M100	73.7 ± 0.5 ^{abc}	83.2 ± 0.2 ^{ab}	91.4 ± 0.3 ^b	86.5 ± 0.8 ^c	87.4 ± 1.5
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	ns

Superíndices distintos indican diferencias estadísticas. Resultados media ± desviación estándar. Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA), P =probabilidad, ns=no significativo.

La digestibilidad de energía en la dieta varió entre 83.5 y 82.7 %, la mayor cantidad de energía digestible se observó en el tratamiento L75/M25 que fue diferente de P100, L50/M50 y L25/M75 ($P<0.05$), y similar a la digestibilidad de energía en la dieta M100. En el tratamiento M100 se obtuvo 83.2 % de digestibilidad aparente de energía y sólo fue diferente de la dieta L25/M75 donde se presentó el menor valor de energía digestible (82.7 %) (tabla VIII).

La digestibilidad de la proteína en las dietas fue superior al 90 % en todos los tratamientos, la dieta P100 presentó el mayor porcentaje de digestibilidad proteica 92.8 % y fue estadísticamente mayor al resto de los tratamientos probados ($P<0.05$). La digestibilidad de proteína en las dietas con aceite vegetal fue similar, independientemente de las combinaciones de aceites (tabla VIII).

La digestibilidad de los lípidos en las dietas varió de 89.4 a 84.3 % (L75/M25 y P100, respectivamente). Los mejores resultados de digestibilidad en lípidos se presentaron en L75/M25 que no fue diferente de L50/M50, sin embargo, sí fue diferente a la digestibilidad lipídica de las dietas L25/M75, M100 y P100. El menor valor de digestibilidad de lípidos se encontró en P100 y es estadísticamente menor a los tratamientos que contienen aceite vegetal ($P < 0.05$). El tratamiento L50/M50 con digestibilidad de lípidos de 88.5 % fue diferente de M100 y P100 ($P < 0.05$).

Con respecto a la digestibilidad del almidón de los tratamientos, no se encontraron diferencias significativas y los valores variaron entre 87.9 % (P100) a 85.6 % (L50/M50).

Parámetros hematológicos y química sanguínea

Los resultados de los parámetros hematológicos de corvina se presentan en la tabla IX. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros de la línea roja (GR, Ht, Hb, VCM, CHCM y HCM) de la biometría hemática en los peces alimentados con los diferentes tratamientos. Lo anterior indica que los contenidos de aceites vegetales en las dietas experimentales comparadas con la dieta con 100 % aceite de pescado no tuvieron un efecto en los eritrocitos de la sangre de corvina. El conteo total de glóbulos rojos (GR) de los peces con las dietas estudiadas fluctuó alrededor de 3 millones de células ml^{-1} , el hematocrito (Ht) en los juveniles de corvina varió de 28.6 a 26.4 % (L25/M75 y L50/M50, respectivamente); el contenido de

hemoglobina (Hb) entre los peces de los diferentes tratamientos se mantuvo entre 7.4 y 7.1 g dL⁻¹.

Tabla IX. Parámetros hematológicos en juveniles de corvina blanca alimentados con dietas que incluían aceite de maíz y linaza como reemplazo parcial del aceite de pescado.

Tratamiento	GR*	Ht	Hb	VCM	CHCM	HCM
P100	2.9	27.8 ± 2.8	7.2 ± 0.7	94 ± 15	26.2 ± 3.1	24.6 ± 4.0
L75/M25	2.9	27.3 ± 3.0	7.4 ± 0.7	93 ± 10	27.4 ± 2.7	25.1 ± 3.4
L50/M50	2.9	26.4 ± 2.8	7.1 ± 0.8	89 ± 10	26.9 ± 3.1	23.8 ± 2.5
L25/M75	3.1	28.6 ± 2.7	7.4 ± 0.6	89 ± 8	25.9 ± 2.7	23.1 ± 2.4
M100	2.9	27.7 ± 2.5	7.3 ± 0.6	91 ± 9	26.4 ± 1.8	24.0 ± 2.7

Resultados media ± desviación estándar. **Hb**: hemoglobina g dL⁻¹, **GR**: glóbulos rojos (cel ml⁻¹)x10⁶, **Ht**: hematocrito %, **VCM**: volumen medio de eritrocitos fL, **CHCM**: concentración de hemoglobina corpuscular media g dL⁻¹ y **HCM**: hemoglobina corpuscular media pg. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

El volumen corpuscular medio de eritrocitos (VCM) en las muestras de sangre de los peces permaneció entre 94 a 89 fL (P100 y L25/M75, respectivamente). La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se observó 27.4 de a 25.9 g dL⁻¹. La cantidad de hemoglobina en las células denominada como Hemoglobina corpuscular media (HCM) se mantuvo entre 25.1 y 23.1 pg (tabla IX).

Los estudios hematológicos en juveniles de corvina blanca también incluyeron análisis de la química sanguínea, las muestras de sangre fueron centrifugadas para obtener el suero y medir las variables químicas en el plasma. En la tabla X se muestran los resultados de la química sanguínea de los juveniles de corvina blanca; no se presentaron datos de albumina ni razón albumina-globulina para el tratamiento L25/M75, ya que la metodología que utilizamos para medir albumina (kit POINTE

SCIENTIFIC) descarta valores menores a 0.5 g dL^{-1} , y se recomienda que sean medidos con análisis de electroforesis.

El contenido de proteína total (Pt) de las muestras de plasma de corvina varió de 2.4 a 1.8 g dL^{-1} . La concentración de Pt en el plasma de los juveniles de corvina blanca fue estadísticamente más alta (2.4 g dL^{-1}) en los peces alimentados con la dieta con 100% de aceite de pescado (P100) comparada con el resto de los tratamientos que incluyeron las diferentes combinaciones de aceite vegetal en la dieta ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias en el contenido de Pt en los peces con los tratamientos en los que se incluyó aceite vegetal en la dieta (tabla X).

El contenido de albumina (Alb) en el plasma fue estadísticamente más alto en los peces alimentados con las dietas M100 y P100 (0.67 y 0.65 g dL^{-1} , respectivamente), y la concentración de Alb fue menor, y estadísticamente diferente, en los peces con la dieta L50/M50 (0.57 g dL^{-1}) ($P < 0.05$). Sin embargo, se puede advertir que los peces alimentados con L75/M25 no mostraron diferencias en la concentración plasmática de Alb con el resto de los tratamientos. Así mismo, es importante denotar que aunque se presentaron diferencias estadísticas, éstas fueron mínimas.

En relación a la razón albumina-globulina (Alb/Glb), ésta varió entre 0.49 y 0.36. La relación de albumina con globulinas fue estadísticamente más alta en los peces con el tratamiento L75/M25 (0.49) y similar a los peces que se alimentaron con la dieta M100 (0.48). La relación más baja (0.36) se observó en los peces alimentados con aceite 100 % de pescado (P100), esta última es similar a la observada en L50/M50

(0.40). Al igual que la concentración de Alb en el plasma de los peces, la razón Alb/Glb aunque estadísticamente diferente fue muy similar entre grupos (tabla X).

Tabla X. Química sanguínea de juveniles de corvina blanca alimentados durante 13 semanas con dietas elaboradas con aceite de pescado, maíz y linaza.

Tratamiento	Pt*	Alb	Alb/Glb*	Glu*	Col	Tri*
P100	2.4 ^a	0.65 ± 0.1 ^a	0.36 ^c	55 ^c	103 ± 24	53 ^c
L75/M25	1.9 ^b	0.61 ± 0.1 ^{ab}	0.49 ^a	255 ^a	104 ± 26	380 ^a
L50/M50	1.8 ^b	0.57 ± 0.1 ^b	0.40 ^{bc}	286 ^a	106 ± 20	481 ^a
L25/M75	2.0 ^b	PF	PF	216 ^{ab}	114 ± 25	221 ^{ab}
M100	2.0 ^b	0.67 ± 0.1 ^a	0.48 ^{ab}	65 ^{bc}	95 ± 26	123 ^{bc}
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	ns	< 0.05

Superíndice diferente en la misma columna indica diferencias significativas. Resultados media ± desviación estándar. **Pt**: proteína tota $g\ dL^{-1}$, **Alb**: albumina $g\ dL^{-1}$, **Alb/Glb**: relación albumina globulina, **Glu**: glucosa $mg\ dL^{-1}$, **Col**: colesterol $mg\ dL^{-1}$ y **Tri**: triglicérido $mg\ dL^{-1}$. *P*=probabilidad. PF=prueba fallida, ns=no significativo. * Análisis de Kruskal-Wallis, valor de la mediana.

La concentración de glucosa (Glu) en el plasma de los juveniles de corvina fue estadísticamente más alta en los peces alimentados con combinaciones de aceite de linaza con aceite de maíz (L75/M25 255 $mg\ dL^{-1}$, L50/M50 con 286 $mg\ dL^{-1}$ y L25/M75 con 216 $mg\ dL^{-1}$), aunque es importante señalar que el contenido de Glu en el plasma de los peces alimentados con la menor concentración de linaza fue similar estadísticamente a los peces alimentados con 100 % aceite de maíz. Sin embargo, al observar la concentración plasmática de glucosa más baja estadísticamente en el grupo alimentado con 100 % aceite de pescado (P100 con 55 $mg\ dL^{-1}$) se puede advertir que ambos grupos en estudio alimentados con 100 % aceite de pescado y 100 % aceite de maíz son similares (55 y 65 $mg\ dL^{-1}$)($P < 0.05$) (tabla X).

La concentración de colesterol en el plasma de corvina fluctuó entre 114 y 95 mg dL⁻¹, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos probados. Por otra parte, los triglicéridos (Tri) en corvina sí mostraron diferencias, y se puede observar la misma tendencia en la concentración de los Tri con la glucosa en el plasma de los juveniles alimentados con las dietas experimentales. Asimismo, la concentración de Tri fue más alta estadísticamente en los peces alimentados con las diferentes concentraciones de aceite de linaza (L75/M25 con 380 mg dL⁻¹, L50/M50 con 481 mg dL⁻¹ y L25/M75 con 221 mg dL⁻¹). Igualmente, los peces alimentados con la menor cantidad de linaza presentaron una concentración de Tri similar a los peces alimentados con % aceite de maíz (M100 con 123 mg dL⁻¹). Además, el contenido más bajo de Tri se encontró en los peces alimentados 100 % con aceite de pescado (P100 53 mg dL⁻¹), que también, fue estadísticamente similar al del grupo alimentado con 100 % aceite de maíz ($P < 0.05$) (tabla X).

Discusión

Parámetros de crecimiento

Al finalizar el bioensayo con los juveniles de *A. nobilis*, se presentaron diferencias en el crecimiento producido por las dietas ofrecidas. El consumo de los distintos aceites vegetales en las dietas afectó el crecimiento de los peces; la longitud ganada, peso ganado y la TCE, los cuales presentaron la misma tendencia en las diferencias significativas. Las mejores respuestas productivas entre estos tres parámetros se observaron en los peces con los tratamientos P100 y L75/M25. Fountoulaki y colaboradores en 2009 ofrecieron dietas con 69 % de aceite vegetal (soya, palma o canola) a organismos de dorada (*Sparus aurata*, 110 g), y reportaron que el peso ganado fue similar entre las dietas elaboradas con aceite de pescado, soya y canola (140-145 g), sin embargo el crecimiento de los peces alimentados con el tratamiento de aceite de palma fue menor (115 g), estos autores sugieren que puede deberse a un desbalance en el contenido de ácidos grasos (AG) de la dieta, generado por el contenido de AG del aceite de palma. Así mismo, un estudio realizado con la misma especie (*S. aurata*, 10.06 g) y lobina europea (*Docentrarchus labrax*, 7.46 g), Izquierdo y colaboradores (2003) elaboraron dietas experimentales isolipídicas para ambas especies, en donde sustituyeron 60 % del aceite de pescado con diferentes aceites vegetales: soya, canola, linaza o una mezcla de éstos y una dieta control sólo con aceite de pescado. Las dietas no generaron diferencias en los parámetros de crecimiento (consumo, peso final y TCE) de los organismos de ambas especies, y reportaron que, ésta respuesta tal vez se debió al alto contenido lipídico (25 %) de las

dietas, así como también a los altos niveles de AG esenciales. Lo anterior sugiere que las diferencias en el crecimiento de los organismos de nuestros tratamientos tal vez se debieron a que algunas combinaciones de los aceites vegetales proporcionaron un mejor perfil en el contenido de los AG esenciales en el alimento, sin embargo, la mayoría de las dietas produjo resultados similares aunque algunas combinaciones de aceite vegetales (L75/M25) reflejaron un mayor impacto en el crecimiento de los peces que otras (L25/M75).

En el presente trabajo las diferentes combinaciones de aceites en la dieta no afectaron el índice hepatosomático (IH), índice viscerosomático (IV), consumo de alimento y la TCA de los juveniles de corvina blanca. Kowalska *et al.* (2012) realizaron un experimento con organismos de lucio (*Sander lucioperca*) similar al presente trabajo, ofreciendo alimentos elaborados con aceite de girasol y de linaza en proporciones de 70 % girasol/30 % linaza, 30 % girasol/70 % linaza y 100 % aceite de linaza, lo que representaba aproximadamente el 50 % de reemplazo en los lípidos totales en la dieta. De igual manera no encontraron diferencias significativas en IH, IV y TCA. Sin embargo, en otro estudio donde se probaron dietas con 50 % aceite de la planta herbácea *Echium sp* y 50 % aceite de pescado en peces de *S. aurata*, reportaron un IH menor (0.85) en los peces alimentados con aceite vegetal, comparado con el IH (0.98) de los peces que consumieron alimento elaborado con 100 % aceite de pescado (Díaz-López *et al.*, 2009), mientras que en el experimento realizado en 2009 por Fountoulaki y colaboradores en organismos de la misma especie observaron que los peces que consumieron aceite de soya, palma y canola (sustituyendo el 69 % de aceite de pescado) presentaron IH mayor (1.2 a 1.3 %) comparado con los que se alimentaron

sólo con aceite de pescado (1 %). Asimismo, en el estudio realizado en 2010 por Kowalska y colaboradores, el índice viserosomático (IV) de los peces de *S. lucioperca* que consumieron dietas con mayor nivel de aceite vegetal en los tratamientos con aceite de linaza y cacahuate (40 y 100 g kg⁻¹) y aceite de pescado y linaza (40 y 100 kg⁻¹) presentaron mayor IV (11 % del peso corporal) y por lo tanto mayor acumulación de grasa en las vísceras. Tomando en cuenta todos estos resultados es posible que las combinaciones de aceites utilizadas en las dietas experimentales del estudio contenían un perfil de ácidos grasos similar al de la dieta con 100% aceite de pescado (P100) o que la composición de AG de las distintas combinaciones de aceite de linaza y maíz, no impactaron la acumulación de grasa en las vísceras de los juveniles de corvina blanca en 11 semanas de bioensayo ya que los peces no mostraron diferencias en el IH e IV, tampoco en consumo de alimento y la TCA.

La REP en el presente trabajo varió de 2.0 a 1.9 % con gran similitud en la respuesta entre los peces que se alimentaron con las diferentes combinaciones de aceites vegetales y aceite de pescado. En un estudio anterior realizado con juveniles de corvina blanca Trejo-Escamilla (2009) ofreció dietas adicionadas con almidón (10, 14, 18 y 22 %) y probióticos (bacterias del genero *Bacillus sp.*), sus resultados de REP para la dieta control (1.1 %) fueron menores a los obtenidos en nuestro trabajo, y el tratamiento que generó el mejor resultado de este parámetro (2.1 %) fue también el que generó le mayor crecimiento (D22), tendencia similar a la obtenida en los tratamientos P100 y L75/M25, lo que indica que las dietas contenían ingredientes de buena calidad y las proteínas fueron bien asimiladas, ya que los alimentos probados contenían alrededor de 52 % de proteína y las que ofreció Trejo-Escamilla en su experimento

contenían entre 54 y 56 % de proteína. De la misma manera, los resultados de REP en todos los tratamientos de este estudio son mayores a los reportados por Durazo y colaboradores en 2010, quienes realizaron un ensayo con juveniles de corvina blanca y obtuvieron una REP de 1.53 % en peces alimentados con 54 % de PD. Por otra parte en 2006 López y colaboradores investigaron el nivel óptimo de lípidos en la dieta y las dietas con mejores resultados de crecimiento (19 y 21 % lípidos) produjeron una REP de 2.4 % mayor a la de todos los tratamientos probados en este trabajo, hay que tomar en cuenta que los organismos del experimento de López y colaboradores tenían un peso inicial de 0.7 g y la dieta contenía un nivel de 61 % de proteína. Lo anterior sugiere que los juveniles de corvina blanca, alimentados con 52% de proteína con diferentes combinaciones de aceites vegetales como sustituto parcial (50 %) del aceite de pescado, favorecieron el aprovechamiento de las proteínas de la dieta en los peces.

Contenido químico proximal

El contenido proximal de pez entero fue afectado por el tipo de dieta consumida y se presentaron diferencias significativas en el contenido de energía, lípidos, proteína y ceniza. En algunos experimentos donde se sustituyó el aceite de pescado por aceite vegetal, el contenido de lípidos y energía es mayor en los peces alimentados con aceite vegetal que en los que consumieron dieta con sólo aceite de pescado. En un experimento con organismos de *S. lucioperca* alimentados con distintos aceites vegetales (soya, linaza y cacahuate) como sustitución parcial del aceite de pescado, los resultados evidenciaron que la mayor cantidad de grasa y energía se presentó en los peces cuya dieta fue elaborada con aceite de linaza y cacahuate, y el grupo alimentado

con aceite de pescado y cacahuate, (con 140 y 100 g kg⁻¹ de aceite vegetal respectivamente) las cuales produjeron casi 11 % de lípidos en el cuerpo comparados con la dieta de mayor nivel de aceite de pescado con 9 % de lípidos en pez entero (Kowalzka *et al.*, 2010). Los autores mencionan que estas diferencias en el contenido de lípidos del pez, se deben al alto contenido de ácido oleico en el aceite de cacahuate. Por otra parte Díaz-López y colaboradores en 2009 probaron el efecto del aceite de *Echium sp.* en organismos de *S. aurata* donde sustituyeron el 50 % del aceite de pescado, observaron que a diferencia de otros trabajos, donde se sustituye el aceite de pescado por aceite vegetal, los peces alimentados con aceite de pescado retuvieron mayor cantidad de lípidos en el cuerpo, sugieren que el reemplazo del aceite de pescado por aceite de *Echium sp* produce resultados favorables, sin embargo, pudiera haber pequeñas deficiencias de AG esenciales para los peces o que el aceite vegetal haya tenido menor digestibilidad que el aceite de pescado. En el presente estudio los menores niveles de lípidos y energía en pez entero se presentaron en el tratamiento P100, probablemente el perfil de AG de las dietas adicionadas con aceite de linaza y maíz o solamente aceite de maíz generaron mayor concentración de lípidos en el cuerpo ya que las dietas fueron isoenergéticas e isoipídicas.

En el presente trabajo el contenido de proteína en el pez entero fue menor en el tratamiento P100, los mayores contenidos de proteína se presentaron en los peces alimentados con las dietas de mayor cantidad de aceite de maíz (L25/M75 y M100), lo que puede sugerir que estas dietas promueven el ahorro protéico en los juveniles de corvina blanca. Estos resultados difieren con los reportados para *Dicentrarchus labrax*, organismos de dicha especie fueron alimentados con dietas que contenían aceite de

soya o aceite de olivo, en los resultados se observó que las dietas no afectaron el contenido de proteína en el pez entero (Parpoura y Alexis, 2001). Aparentemente el aceite de maíz en la dieta genera mejores resultados con respecto a la retención de proteína comparado con otros aceites vegetales. Con respecto al nivel de ceniza en el cuerpo del pez, las dietas probadas en este experimento produjeron diferencias significativas. Sin embargo, las diferencias entre los peces alimentados con las combinaciones de aceites de linaza y de maíz fueron mínimas.

El contenido proximal del músculo presentó diferencias en el contenido de energía, proteína y ceniza. La energía del músculo fue mayor en la dieta P100 y los tratamientos con mayor nivel de aceite de linaza (L75/M25 y L50/M50). La cantidad de proteína en el músculo presentó los niveles más bajos en las dietas con mayor nivel de aceite de maíz (L25/M75 y M100) alrededor del 85 %, sin embargo, no fueron diferentes de los resultados obtenidos con la dieta P100. En estudios donde se probaron aceites vegetales, el nivel de proteína en el músculo de *Micropterus salmoides* (Subhadra *et al.*, 2006) y *S. lucioperca* (Kowalska *et al.*, 2010) alimentados con distintas fuentes de lípidos de origen vegetal (aceite de canola, soya, linaza o cacahuate) no generaron diferencias en el contenido proximal de dicho tejido, tal vez se deba a que las especies antes mencionadas son de agua dulce y a que no fueron alimentadas con el mismo tipo de aceite vegetal con el que los juveniles de corvina fueron alimentados, a excepción del aceite de linaza. Por ello, podemos sugerir que la fisiología de los organismos y el perfil de AG de los aceites explican los resultados observados. Por otra parte, los lípidos en el músculo de corvina no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, a pesar de que los valores variaron de

5.5 a 7.8 %, el mayor nivel de lípidos en el músculo se obtuvo con la dieta P100, estos resultados concuerdan con los reportados en organismos de *S. aurata* alimentados con aceite de *Echium sp* (Díaz-López *et al.*, 2009), en este experimento los organismos alimentados con dieta que contenía solamente aceite de pescado almacenaron mayor cantidad de lípidos en el músculo que los peces alimentados con la dieta que contenía aceite vegetal. Aunque los resultados de los autores antes citados no esclarecen del todo nuestros resultados, podemos mencionar que el contenido proximal del músculo de todos nuestros tratamientos (proteína 85.2-87.5 %, lípidos 5.5-7.8 % y ceniza 4.9-5.4 %) es similar a lo obtenido en experimentos anteriores realizados con juveniles de corvina blanca donde se determinaron niveles óptimos de proteína (Durazo *et al.*, 2010) o lípidos (López *et al.*, 2006; López *et al.*, 2009) en la dieta, o se utilizó alguna dieta control, formulada según los requerimientos de *A. nobilis* observados por López *et al.* (2006 y 2009) y Durazo *et al.* (2010), como testigo de experimentación (Trejo-Escamilla, 2009).

El contenido proximal del hígado y las vísceras de corvina blanca no presentó diferencias entre los tratamientos probados. En algunos estudios donde se incluyeron grandes cantidades de ingredientes vegetales en la dieta, como fuentes alternas de proteína o energía, provocaron mayor acumulación de lípidos en los tejidos, principalmente en el hígado. Zhou y colaboradores en 2005 probaron la inclusión de proteína de soya en la dieta de juveniles de cobia y observaron que los mayores niveles de lípidos en el hígado (13.3 -13.8 %) se produjeron en los peces alimentados con 50 y 60 % de proteína de soya en la dieta. Por su parte, Trejo-Escamilla en 2009 observó mayores niveles de lípidos en pez entero (8.7-9.6 %), músculo (6.5-6.7 %) e

hígado (46.1-47.9 %) en las corvinas que consumieron 18 y 22 % de almidón en la dieta. El caso contrario se produjo en organismos de la especie *S. aurata*, ocasionado por deficiencias de AG en la fuente lipídica de origen vegetal (aceite de *Echium* sp.), provocando deficiencias de AG esenciales y menor concentración de lípidos en el músculo e hígado (Díaz-López *et al.*, 2009). En el tejido visceral tampoco hubo diferencias significativas entre nuestros tratamientos, lo que coincide con los resultados obtenidos por Kowalska y colaboradores en 2012, quienes ofrecieron dietas elaboradas con 50 % aceite vegetal (aceite de girasol o linaza, o una combinación de ambos) a juveniles de *S. lucioperca*, por otra parte en un estudio anterior Kowalska y colaboradores en 2010 experimentaron con organismos de la misma especie ofreciéndoles dietas que contenían aceite de cacahuate, y encontraron que este aceite afectó el contenido proximal de las vísceras, produjo bajos niveles de proteína y altos niveles de lípidos. Los autores mencionaron que aparentemente el alto contenido de AG monoinsaturados del aceite de cacahuate produjo acumulación de lípidos en los tejidos y disminuyó la capacidad de asimilación de AG esenciales en *S. lucioperca*. En el presente estudio, el contenido proximal del hígado y vísceras no presentó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Las dietas elaboradas con aceite vegetal tuvieron un efecto comparable al obtenido con la dieta elaborada sólo con aceite de pescado, lo que nos sugiere que las combinaciones y cantidades de aceite vegetal utilizadas no producen altas concentraciones de grasa en los órganos, lo que es favorable para el desarrollo de los juveniles de *A. nobilis*. Al elaborar alimentos con aceite vegetal es importante obtener un perfil de AG balanceado para la especie, asimismo, siempre es recomendable incluir una cantidad adecuada de aceite de

pescado para promover la síntesis de los fosfolípidos y el metabolismo adecuado de las grasas (Kowalska *et al.*, 2010), para que el resto de los lípidos en la dieta sean empleados como recurso energético.

Digestibilidad *in vivo*

El contenido proximal en las heces (tabla VII) se empleó para realizar los cálculos del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) del alimento y los nutrientes, al comparar las tablas VII (proximal de heces) y VIII (digestibilidad) podemos notar que los tratamientos con mayor nivel de nutrientes en las heces, son los menos digestibles. La digestibilidad de las dietas de nuestro experimento fue mayor al 70 % en todos nuestros tratamientos, las dietas que presentaron la mayor digestibilidad fueron P100, L75/M25 y M100 alrededor del 74 %, resultados mayores a los reportados por Bañuelos-Vargas en 2009 para la digestibilidad de la dieta control para juveniles de corvina blanca y aun mayores que los resultados de digestibilidad de la dieta D44 (44 % proteína digestible y 22 % almidón, adicionada con probiótico), dieta con mejores resultados de crecimiento, donde obtuvieron un 68 % de digestibilidad del alimento. La digestibilidad de las dietas es mayor a las reportadas con otros aceites vegetales, como lo reportado por Karalazos y colaboradores en 2011, quienes experimentaron con organismos de salmón atlántico, ofreciéndoles dietas adicionadas con aceite de canola (60 % de inclusión) y obtuvieron digestibilidad del alimento entre 50 y 60 %, incluso en las dietas de mayor nivel protéico. Lo que sugiere que los ingredientes que se utilizaron para la elaboración de las dietas son adecuados y altamente digestibles en juveniles *A. nobilis*.

En los análisis de digestibilidad del presente estudio, también se observaron diferencias significativas en el CDA de la energía y los nutrientes de la dieta. Para el caso del CDA de la energía el mayor valor 83.5 % se observó en la dieta L75/M25 y fue similar a los resultados obtenidos con la dieta M100, no se encontró una tendencia en el resto de las dietas cuyo CDA se mantuvo alrededor del 83 %, estos resultados de digestibilidad de energía son mayores a los obtenidos por Trejo-Escamilla en 2009 (estudio donde se alimento a juveniles de corvina con distintos niveles de almidón), incluso a los de la dieta control (con balance de nutrientes ideal para *A. nobilis*), el CDA de energía en todas las dietas ofrecidas varió de 71 a 61 %. En el presente estudio el CDA de proteína varió de 92.8 a 91.4 % donde el mejor resultado se produjo con la dieta P100, mayor y diferente al CDA de proteína obtenido con el resto de las dietas, sin embargo, los resultados de digestibilidad de proteína son mayores a los reportados por Trejo-Escamilla (2009) en todos sus tratamientos probados (CDA de proteína 90.2 a 85.2 %), del mismo modo, la proteína en nuestras dietas es más digestible que la proteína en las dietas ofrecidas por Durazo y colaboradores en 2010 a juveniles de corvina blanca, basándonos en el contenido de proteína cruda en las heces 50.7 y 28.6 % correspondiente a las dietas D49 y D54 (que generaron el mejor crecimiento), ya que en el presente trabajo la proteína en las heces varió de 16.3 a 14.4 %. Sin embargo, los resultados de digestibilidad de proteína en la dieta para corvina, que se obtuvieron en este estudio fueron menores a los reportados en esta misma especie por Bañuelos-Vargas (2009) quien observó digestibilidad de proteína mayor al 96 %, con niveles de proteína total en la dieta de 55 a 51 %, tal vez, las diferencias se debieron al contenido de carbohidratos en las dietas (22%) y a la adición del probiótico, esto favoreció la

asimilación de proteína en los peces, ya que en la mayoría de las dietas que se ofrecieron el nivel de PD era menor al 45 %.

EL CDA de lípidos fue mayor en los tratamientos donde se adicionó aceite vegetal en la dieta (89.4 a 86.5 % CDA de lípidos) y fueron estadísticamente mayores al CDA de lípidos del tratamiento P100, alimento elaborado sólo con aceite de pescado. Sin embargo, los tratamientos en los que se agregó aceite de linaza y maíz (L75/M25, L50/M50 y L25/M75) presentaron mayor CDA de lípidos que el tratamiento M100. Este comportamiento se vio reflejado en el porcentaje de lípidos de las heces (tabla VII). Los contenidos de lípidos en las heces de los tratamientos elaborados con aceite de linaza y maíz fueron estadísticamente menores a la cantidad de lípidos en las heces de los tratamientos M100 y P100 (dietas con menor CDA en lípidos); y a su vez los lípidos en la dieta P100 resultaron menos digestibles que los del tratamiento M100. Lo anterior, no concuerda con lo reportado por Karalazos *et al* (2011) quienes ofrecieron dietas elaboradas con aceite de canola a organismos de salmón atlántico, reportando digestibilidad de lípidos mayor al 90 % en todas las dietas adicionadas con dicho aceite, en estos tratamientos también observaron mejor crecimiento y digestibilidad de AG. Esto sugiere que la inclusión de aceite de linaza y de maíz en las distintas proporciones mejoró la digestibilidad de lípidos en los juveniles de corvina blanca. Las dietas M100 y P100 presentaron menor digestibilidad de los lípidos, lo que podría sugerir que la digestibilidad de los lípidos difiere entre las especies, así como en la fuente de lípidos, combinaciones y proporciones de los aceites vegetales.

De manera general en nuestro experimento las dietas con mejor digestibilidad de nutrientes en promedio fueron P100 y L75/M25. Lo que puede deberse a que las dietas

con aceite vegetal se caracterizan por tener AG de la serie Ω -3 y Ω -6, que son altamente digestibles en peces (Alves Martins *et al.*, 2009), de la misma manera el aceite de linaza aporta ácido α -linolénico que es más digestible que los AG del aceite de pescado (Gunasekera *et al.*, 2002) y es precursor de AG esenciales.

Parámetros hematológicos y química sanguínea

En el presente experimento las muestras de sangre obtenidas de los peces alimentados con las distintas dietas, no presentaron diferencias significativas en los parámetros hematológicos o línea roja (tabla IX). Existen pocos antecedentes sobre la hematología de *A. nobilis*, y ningún estudio para estimar sus valores bajo condiciones óptimas de laboratorio. Y la utilización de valores o parámetros base en la hematología de los peces es a la fecha controversial, debido a que además de que no se tienen valores de referencia definidos, hay demasiada variabilidad en sus conteos por la diferencia entre los diseños experimentales, las especies y el efecto de las dietas, entre otros factores. Sin embargo, generalmente en los peces el número de eritrocitos fluctúa entre $1.0\text{-}3.0 \times 10^6 \text{ cel mm}^{-3}$ y el Ht es considerado entre un rango normal $< 45\%$ y $> 20\%$ (Campbell y Ellis, 2007). En estudios de otras especies de peces diseñados para establecer valores normales en hematología, se ha reportado un estimado de GR $3.7 \pm 0.1 \times 10^6 \text{ cel mm}^{-3}$, Hb $8.7 \pm 0.1, \text{ g dL}^{-1}$, en Jundiá *Rhamdia quelen*, pez teleósteo de América del Sur y en el pez gato amarillo *Horabagrus brachysoma* valores similares al registrado en el presente estudio, con rangos de GR $1.66 - 2.43 \times 10^6 \text{ cel mm}^{-3}$, Hb $7.2 - 9.9 \text{ g dL}^{-1}$, Ht $21.4 - 55.6$ (Borges *et al.*, 2004; Prasad y Charles, 2010). Aunque los valores considerados normales en el estudio de los peces citados son otras especies,

es posible que las combinaciones de aceites vegetales de las dietas experimentales en este trabajo, no tuvieran un impacto en la línea roja de los peces durante las 11 semanas del bioensayo y que los valores registrados en GR, Ht y Hb en la sangre estén dentro de los valores base para juveniles de corvina blanca.

Sin embargo, en 2009 Bañuelos-Vargas estudió la respuesta hematológica de juveniles de corvina blanca alimentados con 5 niveles de proteína digestible en la dieta (55, 49, 40, 34, 29), 22% de carbohidratos y adición de un probiótico, y observó conteos de GR de 1.5 a 2.1 millones de células ml^{-1} . En los resultados obtenidos para el presente estudio todos los tratamientos presentaron conteos alrededor de 3 millones de células ml^{-1} superiores a lo observado por Bañuelos-Vargas. Asimismo, dicho autor reportó mayor concentración de Hb (11.9-15.6 g dL^{-1}) y valores de Ht (27.4-32.4 %) similares a los observados en el presente estudio. Las diferencias entre los resultados de ambos experimentos posiblemente se deban a las dietas ofrecidas, ya que se ha reportado variabilidad entre los parámetros medidos en la misma especie generado por la formulación de alimento, el contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos en la dieta, así como en la fuente de nutrientes y la calidad de los ingredientes; otro de los factores de variabilidad son los cambios metabólicos generados por la dieta (Verdegem *et al.*, 1997; Rehulka *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2005; Trenzado *et al.*, 2006, Olsen *et al.*, 2007).

Con respecto a los parámetros plasmáticos de corvina, observamos que el reemplazo del aceite de pescado afectó la química sanguínea de los organismos. El contenido de proteína plasmática fue significativamente mayor en los peces alimentados con la dieta elaborada con 100% aceite de pescado (Pt: 2.4 g dL^{-1}), no se

encontraron diferencias en el resto de los tratamientos y el nivel de Pt estuvo alrededor de 2 g dL^{-1} . Algunos autores mencionan que el nivel de proteína plasmática es un reflejo de la calidad y contenido de proteína en la dieta, así como del nivel de asimilación de amino ácidos y buen estado de salud en organismos (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2009); por otra parte otros autores mencionan que niveles muy elevados de Pt en el plasma son indicadores de inflamación, infecciones o patologías en el hígado (Coz-Rakovac *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2009). En un estudio para determinar el efecto de los lípidos en la dieta sobre la respuesta hematológica en juveniles de lenguado *Platichthys stellatus*, alimentados con dietas con diferentes niveles de lípidos (6, 10, 14, 18 y 22%) reportaron valores de Pt plasmática de 2.2 a 2.7 g dL^{-1} con fluctuaciones en aumento conforme se incrementaron los lípidos en la dieta (6, 10 y 14%) y menores valores al ofrecer dietas con 18 y 22% de lípidos. En el presente trabajo la concentración de proteína en el plasma de los juveniles de corvina fue mayor cuando los peces se alimentaron con 100% de aceite de pescado (2.4 g dL^{-1}) y similar ($1.8 - 2.0 \text{ g dL}^{-1}$) en los grupos experimentales con aceite vegetal en la dieta. Lo anterior podría sugerir que los valores de Pt en los juveniles de corvina blanca están dentro de los parámetros normales para esta especie. Podríamos inferir que las diferencias se deben a la sustitución del aceite de pescado en la dieta, y que el aceite vegetal puede tener un efecto en la asimilación de los nutrientes, en este caso sobre las proteínas, aunque éste haya sido mínimo.

La concentración de albúmina y la relación albúmina-globulina presentaron diferencias entre los tratamientos, aunque no se observó una tendencia clara. La Alb es la proteína sérica más abundante en la sangre, y generalmente la cantidad de albumina

supera a la de las globulinas en relación 2 a 1, o aun mayor a dicha relación. Sin embargo las globulinas suelen ser muy abundantes, superando la cantidad de albumina en la sangre, cuando los organismos presentan procesos inflamatorios, por ello la relación Alb/Glb es empleada como referente del estado de salud. En estudios realizados para establecer parámetros normales, Buenaño (2010) reportó para trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* una relación Alb/Glb de 2.1, 1.09 y 1.05 con valores de Pt de 6.26, 5.08 y 4.24 g dL⁻¹ y de Alb de 4.27, 2.66 y 2.18 g dL⁻¹, en juveniles, adultos y reproductores respectivamente y en juveniles de Rubio (*Salminuss affinis*), Atencio *et al.*,(2007) reportaron valores de la relación Alb/Glb promedio de 1.1, con valores de Pt promedio 3.8 y Alb promedio de 2.0. Por otra parte Salcedo en 2011 en un estudio en donde midió la respuesta hematológica por efectos de dietas con diferentes niveles de carbohidratos y lípidos adicionadas con un probiótico en juveniles de *Totoaba macdonaldi*, reportó valores de Alb/Glb de 1.3-0.7, con valores de Pt de 1.5 a 1.3 g dL⁻¹ y de Alb de 0.77-0.57 g dL⁻¹. La concentración de Pt y Albúmina en los juveniles de corvina blanca fluctuó de 2.4-1.8 y 0.7 a 0.6 g dL⁻¹, respectivamente, y la relación albúmina / globulinas de 0.5-0.4, lo que podría indicar hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Esto es, que los peces podrían estar padeciendo inflamación hepática o intestinal, sin embargo en trabajos anteriores con corvina blanca, valores del índice hepatosomático (IH) de 2.8 a 1.8 han sido asociados con hígados sanos (Torres-Cobian, 2005; Briggs-Fajardo, 2006; Cruz-Hernández, 2007), y en nuestro estudio el IH fue de 2.3 a 2.0, por lo anterior, podríamos suponer que la relación Alb/Glb en esta especie es menor, debido a que los juveniles de corvina blanca presentan valores de albúmina relativamente menores a los valores de Pt que las especies arriba indicadas y

que los peces no tuvieron un problema inflamatorio o daño hepático por las diferentes combinaciones de aceites vegetales en la dieta.

Los niveles de colesterol en los peces alimentados con las dietas experimentales, no presentaron diferencias (114 a 95 mg dL⁻¹) entre los tratamientos probados.

En relación a los valores de glucosa y triglicéridos, en general fueron estadísticamente mayores en los tratamientos donde se ofrecieron alimentos que contenían combinaciones de aceite de linaza y aceite de maíz (L75/M25, L50/M50 y L25/M75). Se ha reportado que altos niveles de glucosa en los peces pueden estar relacionados con el estrés producido por las condiciones de cultivo, el manejo de los organismos o la aplicación de algún anestésico (Coz-Rokavac, *et al.*, 2005; Trenzado *et al.*, 2006), los niveles de glucosa también pueden variar por causa del alimento consumido: sea el nivel de energía, proveniente de lípidos o carbohidratos, (Hemre y Sandnes, 1999; Pérez-Jiménez *et al.*, 2007; Amoah *et al.*, 2008) o la carencia de nutrientes esenciales en la dieta (Zhou *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2009; Bañuelos-Vargas, 2009). Por otra parte los niveles de Tri en el plasma podrían ser aumentados por la inclusión de altos niveles de lípidos o carbohidratos en la dieta (Coz-Rokavac *et al.*, 2005; Pérez-Jiménez *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2009).

En el presente experimento una de las posibles causas de que se hayan incrementado los niveles de glucosa en los peces podría haber sido el muestreo hematológico, ya que en primer lugar, se bajó el nivel de agua del tanque donde se realizó el bioensayo y después se disolvió la anestesia dentro del mismo, lo que pudo

haber alterado en gran medida a los peces. No obstante que los peces de todos los tratamientos recibieron el mismo manejo al muestreo, solamente los peces que consumieron dietas con diferentes combinaciones de aceite de linaza, presentaron aumentos de glucosa y triglicéridos. Esto podría indicar que la inclusión del aceite de linaza en la dieta pudiera estar causando alteraciones en el metabolismo de la glucosa y los triglicéridos. Se ha reportado que una función parcial de la insulina, es la producción de lipoproteinlipasa, una enzima que participa en el metabolismo de los triglicéridos y su función es transformar los triglicéridos en cadenas de ácidos grasos y glicerol, de esta manera la actividad de la enzima lipoproteinlipasa reduce los niveles de triglicéridos de la sangre (Thrall *et al.*, 2006). Por lo tanto en organismos donde la hormona insulina tenga poca actividad o sea producida a bajos niveles, o cuando la insulina parece no estar relacionada totalmente con la regulación de la glucosa en la sangre, como en el caso de los peces (Wilson, 1994; Cowey, 1998), es posible que los triglicéridos provenientes de la dieta, pudieran aumentar los niveles plasmáticos cuando hay baja producción de lipoproteinlipasa.

Sin embargo, en este estudio fue evidente que los aumentos de glucosa y triglicéridos en los peces fueron más altos en la sangre a medida que el contenido aceite de linaza fue mayor (L75/M25, L50/M50 y L25/M75) en la dieta, (de 4 a 5 veces tanto la glucosa como los triglicéridos) comparado con las concentraciones de glucosa y triglicéridos en los peces que consumieron sólo aceite de maíz o de pescado (100%). Por lo anterior, es necesario realizar más investigación para explicar la dependencia del aumento tanto de glucosa como de triglicéridos en la sangre y su relación con el contenido de aceite de linaza en la dieta en los juveniles de corvina blanca.

Es evidente que hace falta mucha información sobre las características hematológicas y plasmáticas de *A. nobilis*, y aún más datos para establecer los valores base de dichos parámetros. Sin embargo, experimentos como este aportan elementos para conocer la respuesta hematológica y de la bioquímica sanguínea en los juveniles de corvina blanca alimentados con combinaciones de aceites vegetales de maíz y linaza en sustitución de aceite de pescado. Hasta el momento los resultados generados indican que al incluir aceites vegetales (linaza y maíz) a un nivel del 50 % en la dieta de corvina blanca, podemos obtener crecimientos similares a los generados con dietas elaboradas sólo con aceite de pescado. Sin embargo, la inclusión de aceite de linaza podría estar generando alteraciones metabólicas, por lo que es necesario elegir los aceites vegetales adecuados para este propósito.

En este estudio, los juveniles de corvina blanca alimentados con la dieta que contenía 100% de aceite de maíz (M100), mostraron resultados en el crecimiento y contenidos proximales similares o muy cercanos a los obtenidos con la dieta P100, sin mostrar alteraciones en la respuesta hematológica y bioquímica sanguínea durante 11 semanas de cultivo. En contraste, con los juveniles alimentados con los tratamientos que contenían diferentes combinaciones de aceite de linaza y maíz, no obstante que las dietas promovieron buen crecimiento en los peces, la respuesta en la bioquímica sanguínea indicó niveles elevados de Glucosa y Triglicéridos en el plasma; por lo que pudieran manifestarse alteraciones metabólicas después de 11 semanas de cultivo.

Conclusiones

Los juveniles de corvina blanca alimentados con los tratamientos L75/M25, L50/M50 y M100 obtuvieron crecimiento similar al generado con la dieta P100, elaborada sólo con aceite de pescado. Sustituir 50 % del aceite de pescado con una combinación de aceite de linaza y maíz o solamente aceite de maíz, produjo crecimiento óptimo en *A. nobilis* de 30 gramos (peso inicial) durante 11 semanas de cultivo.

El contenido protéico, lipídico y de energía corporal en corvina blanca, fue mayor en los organismos que consumieron las dietas adicionadas con 50 % de aceite vegetal (L75/M25, L50/M50, L25/M75 y M100).

Las dietas experimentales presentaron un coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) superior al 70 %. Asimismo, la digestibilidad de proteína fue mayor en los peces alimentados con la dieta P100, sin embargo la digestibilidad de los lípidos fue mayor en los peces con los tratamientos que incluían aceite vegetal en la dieta, principalmente los elaborados con aceite de linaza.

El consumo de alimento elaborado con los aceites vegetales probados (linaza y maíz) no produjo diferencias en los parámetros hematológicos de *Atractoscion nobilis* y dichos valores se sugieren dentro de los intervalos normales para la especie.

El consumo de la dieta P100 generó el mayor contenido de proteína en el plasma 2.4 g dL^{-1} en juveniles de corvina blanca, y es posible que a diferencia de otras especies de peces, corvina blanca posea una relación albumina / globulina alrededor de 0.5.

El consumo de aceite de linaza en la dieta durante 11 semanas de cultivo, ocasionó altas concentraciones de glucosa y triglicéridos en torrente sanguíneo de *A. nobilis* (30 a 80 g).

Referencias

- Ai, Q., Mai K., Li H., Zhang C., Zhang L., Duan Q., Tan B., Xu W., Ma H., Zhang W. y Liufu Z. (2004) Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 230: 507-516.
- Ainsworth, A. J. (1992) Fish granulocytes: Morphology, distribution, and function. *Annual Review of Fish Diseases* 2: 123-148.
- Alves Martins, D., Valente L., Lall S. (2009) Apparent digestibility of lipid and fatty acids in fish oil, poultry fat and vegetable oil diets by Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquaculture* 294 (1-2): 132-137.
- Amoah, A., Coyle S. D., Webster C. D., Durborow R. M., Bright L. A. y Tidwell J. H. (2008) Effects of graded levels of carbohydrate in growth and survival of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Journal of the World Aquaculture Society* 39 (3): 397-405.
- AOAC (1995) Official Methods of Analysis. 16^a Edición . Volumen 1. Arlington, VA.
- Arnason, J., Imsland A. K., Gústavsson A., Gunnarsson S., Arnarson I., Reynisson H., Jónsson A. F., Smáradóttir H. y Thorarensen H. (2009) Optimum feed formulation for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.): Minimum protein content I diet for maximum growth. *Aquaculture* 291 (3-4): 188-191.

- Atencio-García, V., Genes-López, F., Madariaga-Mendoza, D. y Pardo-Carrasco, S. (2007) Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio *Salminus affinis* (Pisces: Characidae) del río Sinú. *Acta biológica Colombiana* 12: 27–40.
- 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 probiótico. Tesis de Maestría, UABC Ensenada, B.C. 76 pp.
- Bartley D.M. y Kent D.B. (1990) Genetic structure of white seabass populations from the southern California bight region: applications to hatchery enhancement. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations* 31: 97-105.
- Bell, J.G., Pratoomyot J., Strachan F., Henderson R.J., Fontanillas R., Hebard A., Guy D.R., Hunter D. y Tocher D.R. (2010) Growth, flesh adiposity and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) families with contrasting flesh adiposity: Effects of replacement of dietary fish oil with vegetable oils. *Aquaculture* 306: 225-232.
- Borges, A., Scotti L. V., Siqueira D. R., Jurinitz D. F. y Wassermann G. F. (2004) Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30: 21-25.
- Briggs-Fajardo, D. I. (2006) Digestibilidad en corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) utilizando harina de soya como fuente parcial de proteína. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C. 38 pp.

- Buenaño, M. V. (2010) Hemograma de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia del Napo, Ecuador. Boletín Técnico 9, Serie Zoológica 6: 1-14.
- Campbell, T. W. y Ellis C. K. (2007) Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology. 3ª Edición. Blackwell Publishing. USA. 287 pp.
- Cho, S. H., Lee S. M, Lee S. M. y Lee J. H. (2005) Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L) reared under optimum salinity and temperature conditions. Aquaculture Nutrition 11: 235-240.
- Coz-Rakovac, R., Strunjak-Perovic I., Hacmanjek M., Popovic N. T., Lipej Z. y Sostaric B. (2005) Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. Veterinary Research Communications 29 (8): 677-87.
- Cowey, C.B. 1998. The Nutrition of Fish: The Developing Scene. Nutrition Research Reviews 1, 255-280.
- Cruz-Hernández, A. C. (2007) Utilización de la harina de pescado tratada con formaldeído para determinar el requerimiento protéico en juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) en condiciones de cultivo. Tesis de maestría. UABC. Ensenada, B.C. 56 pp.
- De Pedro, N., Guijarro, A., López-Patiño, M.A., Martínez-Álvarez, R.M., Alonso-Bedate, M. y Delgado, M.J. (2004) Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca

- (*Tinca tinca*): ritmos diarios y estacionales. Comunicación Científica CIVA 173-190.
- Díaz-López M., Pérez M.J., Acosta N.G., Tocher D.R., Jerez S., Lorenzo A. y Rodríguez C. (2009) Effect of dietary substitution of fish oil by *Echium* oil on growth, plasma parameters and body lipid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition* 15:500-512.
- Ding L., Zhang L., Wang J., Ma J., Meng X., Duan P., Sun L. y 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.
- Durazo, E., Cruz A. C., López L. M., Lazo J. P., Drawbridge M. y Viana M. T. (2010) Effects of digestible protein levels in isonitrogenous diets on growth performance and tissue composition of juvenile *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture Nutrition* 16: 54-60.
- FAO (1995) Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. Volumen III. Vertebrados - Parte 2. 1201-1813 pp.
- FAO Fisheries Department. (2006) Estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). FAO.176 pp.
- FAO (2012) 2006 - 2012 Visión general del sector acuícola nacional – México. En: Fisheries and Aquaculture Department. Roma, Italia.

- Folch, J., Lees M. y Stanley G.A. (1995) Simple method of the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Fountoulaki E., Vasilaki A., Hurtado R., Grigorakis K., Karacostas I., Nengas I., Rigos G., Kotzamanis Y., Venou B. y Alexis M.N. (2009) Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. *Aquaculture* 289: 317-326.
- Furukawa, H. y Tsukahara H. (1966) On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish fed. *Bull. Japanese Society for the Science of Fish* 32 (6): 502–508.
- Gunasekera, R. M., Leelarasamee K. y De Silva, S. (2002) Lipid and fatty acid digestibility of three oil types in the Australian short fin eel, *Anguilla australis*. *Aquaculture* 203 (3-4): 335-347.
- Halver, J.E. y Hardy R.W. (2002) *Fish nutrition*. 3ª edición. Academic Press. US. 824pp.
- Hardy, R.W. y Barrows F.T. (2002) Diet formulation and manufacture. In: Halver J.E. y Hardy R. W. *Fish Nutrition*. 3 th edition. Academic Press, San Diego, U.S.A. 824 pp.
- Hardy, R. (2008) Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of grains and oilseeds. 6-12pp. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, Nuevo León, México.
- Hemre, G. I. y Sandnes K. (1999) Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture Nutrition* 5: 9-16.

- Hemre, G. I., Mommsen T. P. y Krogdahl A. (2002) Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition* 8: 175-194.
- Hervas S., Lorenzen K., Shane M.A. y Drawbridge M.A. (2010) Quantitative assessment of a white seabass (*Atractoscion nobilis*) stock enhancement program in California: Post-release dispersal, growth and survival. *Fisheries Research* 105: 237-243.
- Hesser, E. F. (1960) Methods for routine fish hematology. *The Progressive Fish-Culturist*, 22 (4).
- Izquierdo M.S., Obach A., Arantzamendi L., Montero D., Robaina L. y Rosenlund G. (2003) Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquaculture Nutrition* 9: 397-407.
- Karalazos, V., Bendiksen E. A. y Bell J. G. (2011) Interactive effects of dietary protein/lipid level and oil source on growth, feed utilization and nutrient and fatty acid digestibility of Atlantic salmon. *Aquaculture* 311: 193-200.
- Kowalska A., Zakęś Z., Jankowska B. y Siwicki A. (2010) Impact of diets with vegetable oils on the growth, histological structure of internal organs, biochemical blood parameters, and proximate composition of pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture* 301: 69-77.
- Kowalska, A., Zdzislaw Z., Siwicki A. K., Jankowska B., Jarmolowicz S. y Demska-Zakes K. (2012) Impact of diets with different proportions of linseed and sunflower oils on the growth, liver histology, immunological and chemical blood

- parameters, and proximate composition of pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Fish Physiology and Biochemistry* 38:375-388.
- Lin Y.-H. y Shiao S.-Y. (2003) Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune responses. *Aquaculture* 225: 243-250.
- López, L. M., Torres A. L., Durazo E., Drawbridge M. y Bureau D. P. (2006) Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture* 253: 557-563.
- López, L. M., Durazo E., Viana M. T., Drawbridge M. y Bureau D. P. (2009) Effect of dietary lipid levels on performance, body composition and fatty acid profile of juvenile white seabass, *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture* 289: 101-105.
- Moreira, I.S., Peres H., Couto A., Enes P. y Oliva-Teles A. (2008) Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilisation of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 27 (4): 153-160.
- National Research Council (1993) Nutrient Requirements of Fish. The National Academies Press. Washington, DC. 182 pp.
- Olsen, R. E., Hansen A-C., Rosenlud G., Hemre G-I., Mayhew T. M., Knudsen D. L., Eroldogan O. T., Myklebust R. y Karlsen. (2007) Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II – Health aspects. *Aquaculture* 272: 612-624.

- Parpoura, A. C. R. y Alexis M. N. (2001) Effects of different dietary oils in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. *Aquaculture International* 9: 463-476.
- Pérez-Jiménez, A., Guedes M. J., Morales A. E. y Oliva-Teles A. (2007) Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* 265: 325-335.
- Pirozzi, I., Booth M. A. y Allan G. L. (2010) The interactive effects of dietary protein and energy on feed intake, growth and protein utilization of juvenile mullet (*Argyrosomus japonicus*). *Aquaculture Nutrition* 16: 61-71.
- Plummer (1987) *An Introduction to Practical Biochemistry*. 3ª edición. McGraw Hill Book, Maidenhead, Berkshire, UK.
- Pondella D.J. y Allen L.G. (2008) The decline and recovery of four predatory fishes from the Southern California Bight. *Marine Biology* 154:307-313.
- Prasad, G. y Charles S. (2010) Haematology and leucocyte enzyme cytochemistry of a threatened yellow catfish *Horabagrus brachysoma* (Gunther 1864). *Fish Physiology and Biochemistry* 36: 435-443
- Rehulka J., Minarik B., Rehulkova E. (2004) Red blood cell indices of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aquaculture. *Aquaculture Research* 35: 529-546.
- Rooney, S. C. y Roberts F. L. (1972) Hematological parameters of immature Atlantic salmon. *The Progressive Fish-Culturist*, 34 (3).

- 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.
- Subhadra, B., Lochmann R., Rawels S. y Chen R. (2006) Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 255: 210-222.
- Thivend, P., Mercier, C. y Guilbot, A. (1972) Determination of starch with glucoamylase. In: Whistler, R.L., Bemiller, J.N. (Eds.), *Methods in Carbohydrate Chemistry*. Academic Press, New York, USA, 100–105.
- Thrall, M. A., Baker D. C., Campbell T. W., DeNicola D., Fettman M. J., Lassen E. D., Rebar A. y Weiser G. (2006) *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Blackwell Publishing. USA. 518 pp.
- Torreas-Cobian, A. L. (2005) Respuesta de juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis* a diferentes concentraciones de lípidos en la dieta. Tesis de maestría. UABC. Ensenada, B. C. 84 pp.
- Trejo-Escamilla, I. (2009). Respuesta de crecimiento de juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con bacterias probióticas. Tesis de Maestría. UABC Ensenada, B.C. 48 pp.
- Trenzado, C. E., Morales A. E. y 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.

- Turchini, G.M. y Francis D.S. (2009) Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and β -oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets. *British Journal of Nutrition* 102: 69-81.
- Verdegem, M. C. J., Hilbrands A. D. y Boon J. H. (1997) Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) x *O. mossambicus* (Peters). *Aquaculture Research* 28: 453-459.
- Vojkovich M. y Reed R.J. (1983) White seabass, *Atractoscion nobilis*, in california-mexican waters: status of the fishery. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations* 24: 79-83.
- Wang J.-T., Liu Y.-J., Tian L.-X., Mai K.-S., Du Z.-Y., Wang Y. y Yang H.-J. (2005) Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 249: 439-447.
- Wilson, R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124, 67–80.
- Zhou, Q.-C., Mai K.-S., Tan B.-P. y Lui Y.-J. (2005) Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition* 11: 175-182.
- Zhou X., Li M., Abbas K. y Wang W. (2009) Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 35:435-441.