



Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Marinas



**Evaluación del efecto de dietas con diferentes niveles de almidón
suplementadas con probiótico sobre las variables hematológicas
de juveniles de *Totoaba macdonaldi***

TESIS

Que para obtener el título de

Oceanólogo

Presenta

José Luis Salcedo Martín

Ensenada, Baja California, Noviembre del 2011

**Evaluación del efecto de dietas con diferentes niveles de
almidón suplementadas con probiótico sobre las variables
hematológicas de juveniles de *Totoaba macdonaldi***

TESIS

Que para obtener el título de

Oceanólogo

Presenta

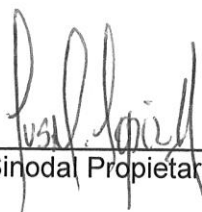
José Luis Salcedo Martín

Aprobada por:



Director de Tesis

Dra. Maricela Flores Ibarra



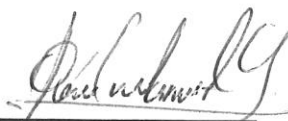
Sinodal Propietario

Dra. Lus Mercedes López Acuña



Sinodal Propietario

M.C. María Isaura Bañuelos Vargas



Sinodal Propietario

Oc. José Manuel Guzmán Calderón

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California y a la Facultad de Ciencias Marinas: Gracias por la formación que se me dio, por ser mi hogar estos 6 años y por impulsarme a crecer profesionalmente.

Dra. Maricela Flores Ibarra: Gracias por su dirección y gran apoyo, tiempo, atención y paciencia.

Dra. Lus Mercedes López Acuña: Gracias por su consejo y su apoyo tanto a nivel profesional como a nivel personal.

M.C. María Isaura Bañuelos Vargas: Gracias por su apoyo y paciencia.

Oc. José Manuel Guzmán Calderón: Gracias por apoyarme siempre.

Unidad de Biotecnología en Piscicultura: Gracias por su apoyo como equipo con excelente organización y disposición.

Familia: Gracias por darme siempre todo lo que necesito, cariño, educación, tiempo y estabilidad económica.

Buenos Amigos: Gracias por estar cuando hacen falta, por compartir miles de experiencias inolvidables en los salones, en la ciudad, en el campo y bajo el agua.

Gracias a todas esas personas que de una u otra manera me ayudaron y acompañaron durante estos seis años.

¡MIL GRACIAS A TODOS!

DEDICATORIA

A mi Familia por darme siempre las herramientas que necesito para salir adelante.

Mamá: Gracias por siempre apoyarme en lo que quiero y siempre decirme lo que quiero aunque yo no lo sepa aún, por dirigirme a aventuras nuevas, y por ser siempre tan cariñosa, tan paciente y tan fuerte.

Papá: Gracias por tus consejos, tu apoyo, tu esfuerzo en todo, tu paciencia, tu dirección y por darme siempre tanto. Gracias por ser como eres con mi mamá, conmigo y con mi hermano.

Dany: Gracias por apoyarme cuando me ha hecho falta. Espero coincidir más tiempo y compartir experiencias.

Abuelos, Tíos, Primos y Sobrinas: Siento estar tan lejos, muchas gracias por no olvidarme por poco que nos veamos. Los llevo a todos siempre muy cerca de mí.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

Evaluación del efecto de dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con probiótico sobre las variables hematológicas de juveniles de *Totoaba macdonaldi*

José Luis Salcedo Martín

RESUMEN

La salud de los peces marinos es indispensable tanto en el desarrollo de dietas como durante su cultivo, por este motivo, el presente trabajo evaluó la respuesta hematológica y el crecimiento de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados durante 8 semanas con dietas isoprotéicas e isoenergéticas con 5 diferentes niveles de almidón (5, 10, 15, 20 y 25%) identificadas como D5, D10, D15, D20 y D25 y suplementadas con un probiótico. Se realizaron 3 biometrías de longitud y peso al principio, mitad y final del experimento. Al final del bioensayo se determinó la supervivencia. Para determinar el efecto de la dieta en la salud de los peces se analizó en la sangre el conteo de glóbulos rojos (GR), hematocrito (Hk), concentración de proteína total (Pt), concentración de albúmina (Al), relación albúmina: globulinas (Al:Gb) y glucosa (Glu). Los resultados obtenidos mostraron una supervivencia del 100 % para todos los tratamientos. El peso ganado de los organismos alimentados con los tratamientos D20 y D25 fue significativamente mayor al de los organismos con la dieta D5. En hematología, los conteos de GR de los tratamientos D15 y D20 resultaron significativamente mayores a los tratamientos D5 y D25. En el Hk los peces alimentados con D15 y D25 presentaron valores significativamente mayores a los organismos del tratamiento D5. La concentración de Pt plasmática fue mayor en los peces con la D5 respecto a los de las dietas D20 y D25. La concentración del Al resultó significativamente mayor en el tratamiento D15 y menor en los peces del tratamiento D25. La relación albúmina: globulinas fue significativamente mayor en los peces con los tratamientos D15 y D20 y menor en los del tratamiento D5. La Glu plasmática fue mayor en los peces alimentados con las dietas D20 y D25. Los resultados encontrados en este estudio indican que las dietas con mayor nivel de almidón favorecieron el crecimiento de juveniles de *T. macdonaldi*. En relación a la respuesta hematológica en los peces, aunque los GR y el Hk presentaron diferencias significativas entre grupos experimentales, los valores se consideraron

dentro de intervalos normales para organismos saludables, debido a que las diferencias pueden ser un reflejo de la reacción fisiológica de los peces en la movilización de las células rojas de reserva, para ajustar el metabolismo a su dieta. Asimismo, los valores de Pt, Al y la razón Al:Gb de los juveniles de totoaba se encontraron dentro de los valores que se podrían considerar normales para esta especie. Por lo tanto, se sugiere que el contenido de carbohidratos en la dieta no afectó la concentración de proteína plasmática total, sin embargo, se observó que el balance en las formulaciones entre el contenido de almidón y lípidos, afectó directamente la optimización en el uso de las proteínas de la dieta, debido a que los peces con mayor proporción de Al:Gb D15 y D20 presentaron mayor concentración de albúmina y mejor crecimiento cuando el porcentaje de los carbohidratos se formuló con un contenido calórico similar o mayor a los lípidos (carbohidratos 15.3 % / lípidos 15.6 % y carbohidratos 20.8 / lípidos 14.3 respectivamente). En esta investigación se observó que la concentración de glucosa aumentó en los peces que se alimentaron con mayor contenido de carbohidratos, lo que favoreció la utilización metabólica de glucosa en la totoaba así como su crecimiento sin exceder su nivel de tolerancia. Los resultados de este estudio apuntan a que cuando la cantidad de carbohidratos en la dieta fue similar o mayor al contenido de lípidos como en las dietas D15, D20 y D25, los juveniles de *T. macdonaldi* mejoraron su crecimiento, aunado a que, la adición del probiótico favoreció la utilización de los carbohidratos y el aprovechamiento de las proteínas de la dieta, sin alterar la salud de los peces durante 8 semanas de cultivo.

ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS		PAG
I	Composición proximal de las dietas utilizadas con diferentes niveles de almidón y suplementadas con probióticos.	22
II	Crecimiento y supervivencia de juveniles de <i>T. macdonaldi</i> alimentados con dietas isoenergéticas e isoprotéicas con diferentes porcentajes de almidón y adicionados con un probiótico	27
III	Parámetros hematológicos de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dietas isoenergéticas e isoprotéicas con diferentes porcentajes de almidón y adicionados con un probiótico	28

I.- INTRODUCCIÓN

La Totoaba (*Totoaba macdonaldi*) es una pez carnívoro endémico del Golfo de Baja California que se encuentra en veda total desde 1975 debido a la pesca excesiva (SEMARNAT-CONANP, 2007). Desde hace 17 años se inició el estudio para la reproducción de la especie en cautiverio en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California para su repoblamiento liberando juveniles a su ambiente natural a partir de 1996 (Sandoval Garibaldi, 2002). Por su alto valor comercial (FAO, 2006), actualmente se busca lograr su producción bajo condiciones de cultivo. Los avances de este proyecto son substanciales ya que desde el año 2010 se inició la etapa piloto de engorda en el estado de Baja California en dos granjas, una ubicada en la ciudad de Ensenada y la otra en San Felipe, además la UABC transfirió juveniles a Sonora para su prueba en jaulas marinas (Sandoval Garibaldi, 2002).

Lo anterior ha sido posible debido a que en la investigación de totoaba se han logrado avances generales en el conocimiento de procesos fisiológicos, ambientales, el efecto que tiene el nivel de alimentación sobre el crecimiento y composición química (Solórzano Salazar, 2006) y el efecto de dietas isoprotéicas con diferentes niveles de energía sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de totoaba (Vizcaíno Pérez, 2008). Debido a que las especies de peces carnívoros marinos requieren de altas cantidades de proteínas en sus dietas, un aspecto de gran importancia para el desarrollo de su cultivo en granjas de

producción, es el desarrollo de dietas de bajo costo (Moksness et al., 2004; FAO, 2009). Es por esto que se necesitan estudios para establecer una adecuada inclusión de ingredientes económicos alternativos a la proteína, como han demostrado ser los carbohidratos, sin embargo, los peces carnívoros tienen una reducida habilidad intestinal para digerir y absorber los carbohidratos incluidos en la dieta (Moksness et al., 2004). Una vía para su utilización es el uso de probióticos que faciliten su aprovechamiento dentro del pez (Trejo Escamilla, 2008), puesto que éstos son capaces de digerir el compuesto, por lo que se les considera microorganismos que confieren un beneficio de salud al receptor (FAO 2009).

Con el fin de formular dietas que aseguren el desarrollo de peces saludables para el consumo humano, se requiere estudiar el efecto que tienen las diferentes formulaciones sobre el rendimiento y salud de los organismos cultivados. Una de las herramientas que se utilizan para el estudio de la salud de un organismo es la hematología, debido a que la sangre es el medio de transporte de nutrientes y refleja directa e indirectamente las condiciones fisiológicas en las que éste se encuentra (Thrall et al., 2006).

La hematología es el estudio del tejido sanguíneo. La sangre se encarga del transporte y del intercambio de nutrientes y desechos de los tejidos y por lo tanto del estado interno de un organismo, y el conocimiento de los parámetros sanguíneos normales permiten advertir las condiciones de salud en que éste se encuentra. (Bastardo y Díaz, 2004; Thrall et al., 2006; Glencross et al., 2007). La

sangre está compuesta tanto de una fase sólida que incluye células (glóbulos rojos, blancos y plaquetas) como de una fase líquida constituida por el plasma sanguíneo que contiene agua (91 %), proteínas (8 %) y otros componentes importantes como electrolitos, metabolitos (glucosa), lípidos y hormonas. Las principales células de la sangre son los eritrocitos que en peces tienen el núcleo en posición central, forma ovalada y se producen en los órganos hematopoyéticos: el riñón, el timo, el bazo y el hígado, madurando en el torrente sanguíneo. El volumen de la sangre ocupado (volumen del paquete celular) por los eritrocitos en circulación es el hematocrito (Thrall et al., 2006; Campbell et al., 2007).

Las proteínas se transportan a través de la sangre, se dividen en albúmina y globulinas, y el nivel de concentración de cada una de estas proteínas individualmente y la relación entre ambas se utiliza para orientar el diagnóstico en diferentes casos clínicos (Stockham et al., 2002; Campbell et al., 2007).

La glucosa, que también se encuentra en la sangre, es el principal monosacárido que el organismo utiliza como fuente de energía, por lo que su concentración es indicador de numerosas condiciones metabólicas (Stockham et al., 2002; Campbell et al., 2007).

Debido a que este es el primer estudio hematológico en esta especie, incluso especies de la familia de los Sciaenidos, no existen rangos establecidos para sus variables, por lo que se buscó bibliografía en especies terrestres y

similares para disertar en este estudio, cuyo objetivo fue evaluar el efecto de dietas con diferentes niveles de almidón y suplementadas con probióticos sobre el conteo total de glóbulos rojos y hematocrito, la concentración de proteína, albúmina y glucosa, así como la razón albúmina : globulinas en el plasma de juveniles de *T. macdonaldi* y relacionar el efecto de las formulaciones con el estado de salud de los peces.

II.- ANTECEDENTES

II.1 Descripción de la especie de trabajo

T. macdonaldi es la especie de mayor talla dentro de la familia *Scieanidae*, con una longitud promedio de 1.3 m (Rosales y Ramírez, 1987). Así mismo, es una especie endémica del Golfo de Baja California que se distribuye desde la desembocadura del río Colorado hasta Mulegé en Baja California Sur y abarca también hasta la desembocadura del río Fuerte en la costa de Sinaloa (Ruiz y Dura, 1985). En sus primeras etapas de vida, la totoaba se alimenta de camarones, cangrejos y de algunos peces (Ruiz y Dura, 1985; Rosales y Ramírez, 1987). Hacia los años 70 la población de totoaba había sido diezmada a tal grado que hubo que establecer una veda total para evitar su captura a partir de 1975, lo que la convirtió en el primer pez marino en cualquier parte del mundo considerado en peligro de extinción y fue enlistado así en la Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies Silvestres (CITES) en 1976 y por el gobierno de E.U.A. en 1979 (SEMARNAT-CONANP, 2007).

En este contexto, la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California cuenta con un programa de reproducción en cautiverio con el fin de contribuir a la repoblación de la totoaba a través de su reproducción en cautiverio y la liberación de juveniles a su ambiente natural (Sandoval Garibaldi, 2002), así como de su producción para acuicultura comercial. En conjunto al proyecto se han logrado avances en el conocimiento de sus procesos de regulación iónica y osmótica ante

cambios hipertónicos en el medio (Ortiz, 1999), descripción del desarrollo embrionario (Morales Ortiz, 1999), metabolismo activo (Jácome Ibarra, 2000), de bioenergética y temperatura (Talamás Rohana, 2001), variación genética en cautiverio y en medio natural (Galarza, 2002) y de la morfología del desarrollo larval (Sandoval Garibaldi, 2002).

II.2 Importancia del equilibrio nutricional en las dietas

No obstante, cuando se considera realizar el cultivo de especies con potencial para la acuicultura, como la totoaba, el conocimiento de los requerimientos nutricionales de los organismos es fundamental para poder formular dietas apropiadas que permitan su adecuado desarrollo y crecimiento (López et al., 2006). En *T. macdonaldi*, se tienen reportes sobre la composición proximal y el contenido de ácidos grasos de organismos silvestres y en cautiverio (Rodríguez Gómez, 2003), el efecto que tiene el nivel de alimentación sobre el crecimiento y composición química (Solórzano Salazar, 2006) y el efecto de dietas isoprotéicas con diferentes niveles de energía sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de totoaba (Vizcaíno Pérez, 2008). Las especies de peces carnívoros marinos requieren de altas cantidades de proteínas en sus dietas para satisfacer sus necesidades metabólicas aprovechando la capacidad de su sistema digestivo. Aunado a lo anterior, un aspecto de gran importancia para lograr su acuicultura es el desarrollo de dietas a bajo costo (Moksness et al., 2004), debido al incremento constante de los precios de la harina y el aceite de pescado, principales fuentes de proteína y energía, respectivamente, utilizados en dietas formuladas (FAO, 2009). Por esto, es necesario realizar estudios para

establecer una adecuada inclusión de ingredientes económicos alternativos. Una opción es la inclusión de carbohidratos en la dieta, que pueden utilizarse como fuente de energía para que la proteína se aproveche en la producción de tejido. Sin embargo, los peces marinos tienen una reducida habilidad para digerir y por lo tanto absorber los carbohidratos de la dieta a nivel intestinal (Moksness et al., 2004). Una vía para la utilización de carbohidratos y reducción de costos de las dietas es el uso de probióticos que tengan la función de ayudar a la digestión de este ingrediente (Trejo Escamilla, 2008). Los probióticos son microorganismos vivos, que al ser administrados en dosis adecuadas, confieren un beneficio nutricional y de salud al receptor (FAO, 2009).

Salinas et al. (2004) estudiaron la respuesta inmune de la *dorada* (*Sparus aurata*) ante la presencia de *Lactobacillus delbrückii* y *Bacillus subtilis* en la dieta, alimentando con 4 combinaciones diferentes de bacteria y un control (sin probiótico). La respuesta inmunológica de los peces mejoró con las dietas adicionadas con el probiótico comparada con la de los controles.

Marzouk et al. (2008) trabajaron con tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), con el objetivo de entender la influencia de algunos probióticos en los parámetros de crecimiento y la flora intestinal del organismo. Dividieron a los peces en tres grupos, el primero se alimentó con una dieta suplementada con levadura muerta (*Saccharomyces cerevisiae*), el segundo grupo fue alimentado con una dieta suplementada con *Bacillus subtilis* vivo y *Saccharomyces cerevisiae*, mientras que

el tercer grupo fue alimentado con una dieta control sin probiótico. Después de 6 semanas de experimento los grupos de peces alimentados con dietas suplementadas con probiótico mostraron un incremento significativo en los parámetros de crecimiento, mientras que en relación al efecto de la dieta sobre la flora intestinal, el grupo alimentado con levadura muerta no tuvo efecto.

Bañuelos Vargas (2009) evaluó el crecimiento y respuesta hematológica de juveniles de *Atractoscion nobilis* (*Sciaenido*) alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína digestible (44, 40, 34 y 29 %, respectivamente) suplementadas con 22 % de almidón y un probiótico. Así como una dieta control con 49 % de proteína digestible sin probiótico. Los resultados relacionados con este trabajo mostraron que los peces alimentados con menos contenido proteico (44 y 40 %) y la adición del probiótico crecieron igual que el grupo control (49 %). Lo que probablemente indica que el probiótico favoreció la biodisponibilidad de los sacáridos del almidón para su absorción intestinal como comprobaron Lee et al. (1999).

II.3 Hematología en la salud de los peces

Las modificaciones en las formulaciones de las dietas con el fin de encontrar mejores costos de producción en el cultivo de peces pueden generar alteraciones en la salud de los organismos debido a que sus hábitos de alimentación natural están siendo modificados. Por esto en la actualidad es de suma importancia estudiar el impacto de las dietas sobre la salud de los peces,

pues las deficiencias nutricionales son con frecuencia causantes de condiciones de salud deteriorada en los organismos. Una manera de estudiar el estado de salud de un organismo es a través de análisis hematológicos y de bioquímica sanguínea (componentes de la sangre); los cuales han demostrado ser herramientas de uso importante en estudios de nutrición, esto debido a que la sangre es el medio de transporte de nutrientes y refleja directa e indirectamente las condiciones de salud en las que se encuentra el organismo (Thrall et al., 2006).

La sangre es un tejido que transporta numerosas sustancias esenciales para la vida como el oxígeno y los nutrientes. Se encarga de la comunicación física interna de un organismo, y sus características dependen tanto de los órganos que la producen, como de las condiciones nutricionales y de salud de los animales. Los parámetros hematológicos y metabolitos en la sangre, pueden utilizarse como indicadores de la salud (condición fisiológica y metabólica de los organismos) además de ser herramientas para proporcionar información útil en la evaluación del efecto de dietas específicas sobre los organismos (Bastardo y Díaz, 2004; Thrall et al., 2006; Glencross et al., 2007).

De Pedro et al. (2004) establecieron que la tenca (*Tinca tinca*) presenta variaciones diarias y estacionales rítmicas en sus parámetros hematológicos y bioquímicos, relacionados a diversas situaciones ambientales y fisiológicas que se le presentan durante el año, como son reproducción, calidad y temperatura del agua, oxígeno disuelto, alimentación, etc. De esta forma recomienda tener en

cuenta este tipo de fenómenos al utilizar estas herramientas como indicadores del estado fisiológico de los organismos.

II.3.1 Glóbulos Rojos y Hematocrito

En el eritrocito se transporta la hemoglobina, molécula encargada del acarreo de oxígeno a través de la sangre. En peces, los eritrocitos tienen el núcleo en posición central, tienen forma ovalada y son producidos por los órganos hematopoyéticos: el riñón, el timo, el bazo y el hígado. Su maduración se lleva a cabo también en el torrente sanguíneo y es común encontrar eritrocitos inmaduros. En caso de ser necesarios más glóbulos rojos, los órganos hematopoyéticos que funcionan también como reservorio liberan parte o todo el porcentaje de eritrocitos que tienen almacenado hacia el torrente sanguíneo, que puede aumentar el número de eritrocitos en el torrente sanguíneo desde un 30 – 50 % (Thrall et al., 2006). El número de eritrocitos en peces normalmente se encuentra entre el millón y los 3×10^6 cel/ μl (Thrall et al., 2006). Bañuelos Vargas (2009) reportó en corvina blanca rangos en los conteos de glóbulos rojos de entre 1.5 ± 0.3 y $2.1 \pm 0.3 \times 10^6$ cel/ μl . El volumen de la sangre ocupado (volumen del paquete celular) por los eritrocitos en circulación es el hematocrito y se expresa en porcentaje. Los peces activos tienen un hematocrito mayor que los peces menos activos, pero también hay variabilidad entre especies y dentro de la misma especie (Thrall et al., 2006; Campbell et al., 2007).

Lim et al. (2000) estudiaron el crecimiento, la hematología, la respuesta inmune y la resistencia del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) después de experimentar con 9 dietas a base de clara de huevo. Tres dietas con diferentes niveles de vitamina C (0, 50, 3000 mg / Kg) y a su vez cada una con 3 niveles de hierro (0, 30 y 300 mg / Kg) alimentando a los peces dos veces al día durante 14 semanas. Encontrando que los organismos alimentados con una dieta deficiente en hierro presentaron alteraciones en los parámetros hematológicos, con disminución en el conteo total de glóbulos rojos, hematocrito y hemoglobina. El conteo de glóbulos rojos aumento significativamente en los peces con la dieta con 3000 mg / Kg de vitamina C.

Chen et al. (2004) estudiaron el efecto de 8 dietas suplementadas con vitamina E (0 o 38 mg / Kg) con 4 diferentes niveles de vitamina C (23, 43, 98 o 222 mg / Kg dieta) sobre la hematología de *Notemigonus crysoleucas*, encontrando que los peces con dietas no suplementadas con vitamina E mostraron hematocritos y hemoglobina reducidos.

Srivastava et al. (1987) estudiaron el efecto de la densidad poblacional en tanques de cultivo sobre el conteo de glóbulos rojos y el hematocrito. Ellos encontraron que estos dos parámetros tienden a aumentar cuando los organismos se cultivan a altas densidades de siembra, tal vez debido a las bajas concentraciones de oxígeno, explicando que el pez utiliza los eritrocitos de reserva para aumentar sus números en circulación y satisfacer la demanda de oxígeno de su metabolismo. Asimismo, Glencross (2009) reportó que en trucha

arcoíris el oxígeno participa de manera importante en procesos metabólicos aerobios como la oxidación de nutrientes para la obtención de energía. En este contexto podría entenderse que los organismos al necesitar mayor cantidad de oxígeno presentarían aumentos en los parámetros sanguíneos (glóbulos rojos y hematocrito) que se ocupan del transporte de oxígeno.

Kumar et al. (2005) trabajaron con juveniles de *Labeo rohita* para estudiar el efecto de diferentes niveles de carbohidratos en la dieta sobre sus parámetros hematológicos. Encontraron que los peces alimentados con los diferentes tratamientos no mostraron diferencias significativas en cuanto a conteo de eritrocitos, concluyendo que el conteo total de glóbulos rojos no es una variable que se vea directamente afectada por el nivel de carbohidratos en la dieta.

Lumlertdacha et al. (1995) trabajaron con *Ictalurus punctatus* de 1 y 2 años de edad, adicionando diferentes niveles de toxinas provenientes de *Fusarium moniliforme*, encontraron que los tratamientos alimentados con más de 80 mg/ kg mostraron hematocritos significativamente menores, concentraciones de 320 mg/ kg mostraron hematocritos y conteos de eritrocitos significativamente menores, concluyendo que estas dos variables hematológicas pueden ser utilizadas para detectar el estado de salud de los organismos que en este caso fueron intoxicados en diferentes magnitudes.

II.3.2 Proteínas Totales, Albúmina y Globulinas

Las proteínas, cadenas polipeptídicas de aminoácidos, son la base de las estructuras que componen la mayoría de los tejidos de un organismo, éstas se transportan a través de la sangre, provenientes de la dieta, se digieren y absorben en el sistema digestivo y se modifican en su mayoría en el hígado. Algunos de los factores que disminuyen su concentración son la falla hepática, falla renal, hemorragias, inflamación del tracto gastrointestinal, procesos catabólicos y la ingesta insuficiente a través de la dieta (Stockham et al., 2002; Thrall et al., 2006; Campbell et al., 2007).

Las proteínas en el plasma se dividen según su tamaño: los dos grupos más importantes son la albúmina y las globulinas. La albúmina contribuye en gran medida a la presión oncótica, esta presión evita que el agua pase por difusión de la sangre hacia los tejidos. Esta proteína se encarga de transportar iones de calcio y magnesio, bilirrubinas, ácidos grasos, tiroxina y hormonas, entre otras sustancias. Las globulinas por otra parte, son un grupo muy diverso dentro de las proteínas plasmáticas, se encuentran en muchas ocasiones formando complejos con compuestos no proteicos como los lípidos y los carbohidratos. La función de las globulinas es muy amplia, se encargan del transporte de hemoglobina libre y su fijación, transporte de hormonas y enzimas, entre otras sustancias. También se encargan de la mayoría de los procesos inflamatorios, por lo que niveles anormalmente elevados de esta proteína es un indicador de inflamación, para determinar la naturaleza de dicho proceso inflamatorio es necesario realizar un análisis que nos muestre específicamente cuales globulinas presentan niveles anormalmente elevados. La deshidratación afecta tanto a las globulinas como a la

albúmina y provoca un aumento relativo de su concentración (Stockham et al., 2002; Thrall et al., 2006; Campbell et al., 2007).

Para el estudio y diagnóstico de las concentraciones normales y anormales de proteína total se calcula una relación albúmina: globulinas, el resultado de esta relación es una herramienta primaria que nos permite detectar problemas de salud en el organismo, y en su caso, encontrar una posible causa para el problema (Stockham et al., 2002; Thrall et al., 2006).

Al estudiar esta relación se espera encontrar un rango normal dentro de la especie de interés, este rango se establece estudiando determinado número de organismos clínicamente saludables. Cuando la relación es anormal en comparación con este rango establecido podemos encontrar las siguientes condiciones (Stockham et al., 2002; Thrall et al., 2006; Campbell et al., 2007):

Concentraciones de proteína total disminuida:

Esta disminución puede deberse a niveles bajos de albúmina, globulinas, o ambos.

Hipoalbuminemia con Hipoglobulinemia

Esta relación nos indica que ambos grupos de proteínas se encuentran en concentraciones bajas y puede deberse a las siguientes razones:

Pérdida de sangre

Filtrado de proteína provenientes del plasma hacia el tracto digestivo

Aumento en la permeabilidad vascular

Hipoalbuminemia con Concentración Normal a Elevada de Globulinas

Esta relación nos indica que la albúmina se encuentra en bajas concentraciones por no ser sintetizada o por su pérdida, mientras que las globulinas pueden ser normales o encontrarse incrementadas y puede deberse a las siguientes razones:

Falla hepática

Desnutrición

Parasitismo gastrointestinal

Absorción intestinal ineficiente

Insuficiencia pancreática

Enfermedad glomerular

Hipoglobulinemia con Concentraciones Normales a Elevadas de Albúmina

Esta relación nos indica que las globulinas se encuentran en bajas concentraciones normalmente debidas a una disminución en la concentración de inmunoglobulinas, mientras que la albúmina puede

ser normal o encontrarse incrementada y puede deberse a las siguientes razones:

Falla en la Transferencia Pasiva

Heredar o Adquirir Inmunodeficiencia

Concentraciones de Proteína Incrementadas

Niveles elevados de proteína pueden deberse a aumentos en albúmina, globulinas, o ambas.

Hiperalbuminemia e Hiperglobulinemia

Esto es resultado de deshidratación, la relación albúmina: globulinas no se ve alterada, simplemente se obtiene un aumento relativo en la concentración de proteínas.

Hiperglobulinemia

La importancia de esta condición depende del tipo de globulinas que se encuentran en mayor concentración.

Las razones por las que puede presentarse esta condición son las siguientes:

Estimulación Crónica de Antígenos

Enfermedad Hepática

Linfoma y Leucemia Linfocítica

Mieloma Múltiple

Inflamación

Enfermedad Renal

(Stockham et al., 2002; Thrall et al., 2006; Campbell et al., 2007)

Ellis et al. (1981) establecieron que la concentración de proteína en el plasma de peces generalmente se encuentra en un rango que oscila entre 1.68 y 6.19 mg/ dl.

Kumar et al. (2005) trabajaron con juveniles de *Labeo rohita* estudiando el efecto de diferentes niveles de carbohidratos no gelatinizados en la dieta (0, 50, 100 y 150 g/ kg) con suplementación de amilasa, sobre sus parámetros hematológicos. Encontraron que el tratamiento de 50 mg/ kg mostró concentraciones significativamente mayores en proteína total y globulinas, mientras que el resto de los tratamientos no mostraron diferencias. Así mismo, no encontraron diferencias entre tratamientos en cuanto a albúmina y relación Albúmina: Globulinas concluyendo que la dieta con carbohidratos no gelatinizados (50%) suplementada con amilasa estimuló el sistema inmune de juveniles de *L. rohita* .

Lumsden et al. (2002) estudiaron el cultivo de *Oncorhynchus tshawytschade*. Los animales presentaban abdómenes distendidos, dilatación gástrica, inflamación de la vejiga natatoria y aumento en la mortalidad. No se observaron ni ulceración de la mucosa gástrica ni inflamación de esta. Las proteínas totales en 23 peces resultaron similares a aquellas en peces clínicamente saludables, aunque no se midió la albúmina para descartar desequilibrios en la relación albúmina: globulinas, lo que podría indicar que aunque los niveles de proteína totales no presentaron diferencias significativas, la relación albúmina: globulinas pudo estar completamente fuera de rango, indicando deterioro de la salud,, comprobando la importancia que tiene realizar la medición de ambas variables para poder estudiar y definir el estado de salud de los peces.

II.3.3 Glucosa

La glucosa es el principal carbohidrato que el organismo utiliza como fuente de energía. Entra a través de la dieta y su concentración en la sangre depende de una serie de factores, como son la liberación de hormonas, producción de glucosa en el hígado, su absorción por parte del tejido muscular y adiposo estimulada por la insulina, y el consumo de ésta por la actividad del organismo en general, también hay células como las neuronas o los eritrocitos que consumen glucosa independientemente de la presencia de hormonas (Stockham et al., 2002; Campbell et al., 2007).

Hutchins et al. (1998) estudió diferentes niveles y tipos de carbohidratos en la dieta de juveniles de *Morone chrysops* encontrando que las concentraciones de glucosa en el plasma fueron similares independientemente de la cantidad o tipo de carbohidrato administrado.

Hemre et al. (1991) estudió el efecto de los carbohidratos sobre el estrés de *Gadus morhua*, encontrando que los niveles de glucosa en plasma son afectados por el estrés en mayor grado en peces cuya dieta incluye carbohidratos que en peces cuya dieta no los contiene.

III.- PROBLEMA DE ESTUDIO

El efecto de la composición de la dieta con incremento de los niveles de almidón y suplementadas con probióticos, se verá reflejado en las variables hematológicas y por lo tanto, en la condición de salud de juveniles de *T. macdonaldi*.

IV.- HIPÓTESIS

Las variables hematológicas permitirán evaluar el efecto de la dieta sobre la condición de salud de juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con diferentes niveles de almidón en dietas suplementadas con probiótico.

V.-OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de dietas con diferentes niveles de almidón y suplementadas con probiótico sobre las variables hematológicas de juveniles de *T. macdonaldi*.

V.1 OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar los valores del conteo total de glóbulos rojos y hematocrito de la sangre de juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con probiótico.

Medir la concentración de proteína, albúmina y glucosa en el plasma de la sangre de juveniles de *T. macdonaldi*.

Estimar la razón albúmina: globulinas en la sangre de juveniles de *T. macdonaldi*.

Relacionar los valores de las variables hematológicas con la composición de las dietas y la condición de salud de juveniles de *T. macdonaldi*.

VI.- METODOLOGÍA

VI.1 PROCEDENCIA DE LOS ORGANISMOS

Los juveniles de *T. macdonaldi* fueron proporcionados por la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California.

VI.2 DIETAS EXPERIMENTALES

Se utilizaron 5 dietas con 5, 10, 15, 20 y 25 % de almidón (Ver Tabla I).

Tabla I.- Composición proximal (peso seco) de las dietas experimentales (% en 100 g dieta).

DIETA	Proteína	Lípidos	Almidón	Ceniza	Energía (cal g ⁻¹)
D5	53.1	21.7	6.2	11.8	5298
D10	53.1	18.9	10.6	11.4	5216
D15	52.3	15.7	15.3	12.5	5061
D20	51.8	14.3	20.8	12.0	5126
D25	50.9	12.1	23.7	12.4	4990

Nota: Los porcentajes de lípidos en las 5 dietas se ajustaron para obtener dietas isoenergéticas.

VI.3 PROCEDENCIA DEL PROBIÓTICO

Los probióticos fueron proporcionados por el laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Marina del CICESE. La cepa fue aislada y seleccionada de acuerdo a Ochoa-Solano y Olmos-Soto (2006).

VI.4 ORGANISMOS Y SISTEMA ACUÍCOLA EXPERIMENTAL

450 juveniles de *T. macdonaldi* fueron aclimatados con las dietas experimentales durante 7 días (Moksness *et al.*, 2004). El sistema de cultivo consistió de 15 tanques con capacidad de 65 l con 30 peces cada uno en un sistema semi-abierto con un recambio de 1.5 l/ min. Se utilizó agua de mar filtrada a través de cartuchos de 20 y 5 μ , un filtro de arena y lámpara UV. Durante el experimento se llevó el control de la temperatura ($23 \pm 1.0^\circ \text{C}$), el oxígeno ($6 \pm 0.5 \text{ mg/l}$) y el fotoperiodo neutro (12 luz: 12 oscuridad). El bioensayo de alimentación se realizó por triplicado, es decir, 3 tanques por tratamiento, esto durante 8 semanas en las cuales los peces se alimentaron a saciedad 2 veces al día (8:00 y 16:00 horas). Al final de cada alimentación se realizó la limpieza de los tanques.

VI.5 SUPERVIVENCIA

Se evaluó la supervivencia de juveniles de *T. macdonaldi* mediante un conteo inicial en cada tratamiento y un conteo al final del experimento.

VI.6 CRECIMIENTO EN PESO Y LONGITUD

Se evaluó el crecimiento en peso (g) y longitud (cm) de los organismos utilizando una cinta métrica con una precisión de ± 0.1 cm y una balanza digital cuya precisión es de ± 0.01 g. Se realizaron 3 biometrías (inicial, intermedia y otra final) de los organismos. Para facilitar la manipulación de los animales durante los muestreos, estos fueron anestesiados con 150 mg/l de aceite de clavo diluido en etanol a razón de 1:9, respectivamente (Agüero-Grande, 2008).

VI.7 MUESTREO DE SANGRE

Para el muestreo de sangre, se utilizaron jeringas estériles de 1 ml adicionadas con 0.1 ml de solución anticoagulante EDTA (3 mg de EDTA por ml de sangre) (García et al., 2007). Se muestrearon 8 peces al azar de cada tanque a los que se les extrajo sangre a través de una punción cardíaca. Las muestras de sangre fueron colocadas en tubos de polietileno de 1.5 ml y se mantuvieron en un ambiente oscuro y en refrigeración durante su análisis. Con la sangre entera se determinó el hematocrito, hemoglobina y conteo de eritrocitos. Posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 12 000 rpm durante 10 minutos a 4° C para separar el plasma sanguíneo del paquete celular, que se mantuvo a 4° C hasta el análisis de glucosa, proteína y albúmina (García et al., 2007).

VI.8 ANÁLISIS HEMATOLÓGICOS

El conteo total de eritrocitos (cel/ μ l) se llevó a cabo mezclando 20 μ l de la muestra de sangre en solución de Dacie´s para peces en una proporción de 1:50, respectivamente (Goldenfarb et al., 1971). Posteriormente se utilizò una cámara de Neubauer y un microscopio compuesto a 40 X y se tomaron fotos digitales a través del programa Pax-it. Los glóbulos rojos fueron contados a partir de las fotografías digitalizadas de las celdillas de la cámara de Neubauer.

Los análisis de proteína y glucosa se realizaron de acuerdo a las especificaciones de los Kits de Pointe Scientific. lot. 722101-057 para proteína, 725004-236 para albúmina y 805801-060 para glucosa.

Para el análisis de hematocrito (Hk, %) se utilizó el método de microhematocrito que consiste en centrifugar los capilares a 10 000 rpm durante 10 min. Posteriormente los capilares se colocaron en el lector de hematocrito “Spirocrit Lancer” para determinar el porcentaje del paquete del volumen celular o hematocrito.

El cálculo del contenido de globulinas totales se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Globulinas totales (g/ dl)} = \text{Proteína total en plasma (g/ dl)} - \text{albúmina total en plasma (g/ dl)}$$

La ecuación que se utilizó para calcular la razón albumina: globulinas fue la siguiente:

$$\text{Razón albumina: globulinas} = \text{albumina total} / \text{globulinas totales}$$

I.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental fue aleatorio simple. Los datos se analizaron a través de la prueba ANOVA de una vía y se determinaron las diferencias significativas entre tratamientos por el método de Holm-Sidak con niveles de significancia de $P < 0.05$. Los datos que no cumplieron con la homogeneidad de varianzas fueron analizados a través del método de Tukey. Los resultados se reportaron como media \pm desviación estándar. Todos aquellos valores expresados como porcentajes, se transformaron con la función arco seno y se evaluó la distribución normal y la homogeneidad de varianzas. Las diferencias entre los grupos de datos que no presentaron homogeneidad de varianzas se analizaron a través de la prueba de Dunn. Los datos que no cumplieron con la distribución de normalidad fueron analizados por la vía no paramétrica de Kruskal- Wallis y se reportaron con el valor de la mediana.

VII.- RESULTADOS

VII.1 Crecimiento y Supervivencia

El peso ganado de los peces alimentados con la dietas D20 y D25 fue significativamente ($P < 0.05$) mayor al de los organismos que recibieron la dieta D5. Sin embargo el peso de los peces que se alimentaron con la dieta D10 y D15 fue similar al del resto de los grupos experimentales (Tabla II). La supervivencia fue del 100 % en todos los tratamientos.

Tabla II.- Crecimiento y supervivencia de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas isoenergéticas e isoprotéicas con diferentes porcentajes de almidón y adicionados con un probiótico.

Dietas	Peso inicial, g	*Peso final, g	*Peso ganado, g	Supervivencia, %
D5	11.42±0.18	63.93±1.51 ^b	52.51±1.46 ^b	100
D10	11.27±0.12	69.37±2.41 ^{ab}	58.10±2.52 ^{ab}	100
D15	11.38±0.12	70.50±3.64 ^a	59.12±3.73 ^{ab}	100
D20	11.43±0.05	72.35±1.39 ^a	60.92±1.41 ^a	100
D25	11.36±0.11	73.64±2.46 ^a	62.28±2.56 ^a	100

* Superíndices estadísticos a>b>c>d

VII.2 Glóbulos Rojos

Los organismos que consumieron dietas con 5 y 25 % de almidón presentaron menos GR comparados con los grupos alimentados con 15 y 20 % de almidón. Sin embargo los peces alimentados con 10 % de almidón no tuvieron diferencias con el resto de los tratamientos (Tabla III).

Tabla III.- Parámetros hematológicos de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas isoenergéticas e isotróficas con diferentes porcentajes de almidón y adicionados con un probiótico.

Dietas	GR * X10 ⁶ cel/ μ l	Hk * %	Pt * g/ dl	Al * g/ dl	Al:Glb * g/ dl	Glu** mg/ dl
D5	1.2 \pm 0.3 ^b	34 \pm 4 ^b	1.5 \pm 0.1 ^a	0.61 \pm 0.09 ^{cd}	0.7 \pm 0.07 ^c	47 ^{bc}
D10	1.5 \pm 0.2 ^{ab}	36 \pm 4 ^{ab}	1.4 \pm 0.1 ^{ab}	0.67 \pm 0.11 ^{bc}	0.8 \pm 0.06 ^b	34 ^d
D15	1.7 \pm 0.3 ^a	39 \pm 4 ^a	1.4 \pm 0.1 ^{ab}	0.77 \pm 0.09 ^a	1.3 \pm 0.17 ^a	38 ^{cd}
D20	1.6 \pm 0.4 ^a	37 \pm 4 ^{ab}	1.3 \pm 0.1 ^b	0.70 \pm 0.08 ^{ab}	1.3 \pm 0.12 ^a	76 ^a
D25	1.4 \pm 0.3 ^b	38 \pm 5 ^a	1.3 \pm 0.1 ^b	0.57 \pm 0.06 ^d	0.8 \pm 0.06 ^b	66 ^{ab}

*Glóbulos Rojos (GR), Hematocrito (Hk), Proteína (Pt), Albúmina (Al), Globulinas (Gb), Relación Albumina/Globulina (A:G) y Glucosa (Glu). Los valores mostrados son la media \pm la desviación estándar.

** Análisis estadístico de Kruskal-Wallis, valor de mediana.

Los superíndices alfabéticos indican diferencias significativas con una $P < 0.05$ en donde $a > b > c > d$

VII.3 Hematocrito

Los organismos alimentados con las dietas D15 y D25 presentaron el Hk significativamente ($P < 0.05$) más alto en relación al de los peces con la dieta D5. El Hk en los peces alimentados con 10 y 20 % de almidón en la dieta fue similar ($P < 0.05$) al resto de los grupos experimentales (Tabla III).

VII.4 Proteína

La concentración de proteínas plasmáticas de los peces alimentados con la dieta D5 fue mayor que en los organismos tratados con D20 y D25. La concentración de proteína en los peces que recibieron las dietas D10 y D15 no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) con el resto de los tratamientos (Tabla III).

VII.5 Albúmina

La concentración de albúmina en el plasma de los peces alimentados con la dieta D15 fue significativamente ($P < 0.05$) mayor que la de los peces que recibieron las dietas D5, D10 y D25. Los organismos que recibieron la dieta con 25 % de carbohidratos presentaron significativamente ($P < 0.05$) menor concentración de albúmina en el plasma comparado con los peces que consumieron las dietas D10, D15 y D20 (Tabla III).

VII.6 Relación Al: Gb

Los peces de los tratamientos D15 y D20 mostraron una relación Alb: Gb significativamente ($P < 0.05$) mayor a la encontrada en los demás tratamientos. Los peces alimentados con el tratamiento D5 presentaron la menor relación (Tabla III).

VII.7 Glucosa

La concentración de glucosa plasmática en los peces alimentados con la dieta D20 fue estadísticamente ($P < 0.05$) mayor a la encontrada en los organismos tratados con D5, D10 y D15. Los organismos que recibieron la dieta con 10 % de carbohidratos presentaron menor concentración de glucosa comparados con los tratamientos D5, D20 y D25. No obstante, no hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la concentración de glucosa plasmática entre los peces alimentados con D5, D15 y D25 (Tabla III).

VIII.- DISCUSIONES

VIII.1 Crecimiento y supervivencia de juveniles de *T. macdonaldi*.

Los resultados en este estudio mostraron que los juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con dietas que contenían niveles de 20 y 25 % de carbohidratos y suplementados con probiótico, presentaron un crecimiento mayor a los peces alimentados con 5 % (ver Tabla II). En un estudio que realizaron Peres y Oliva-Teles (2002) reportan que la inclusión de carbohidratos en dietas de hasta 25 % en corvina europea (*Dicentrarchus labras*) no mostraron efecto en el crecimiento respecto a la dieta sin este nutriente. Asimismo, Moreira et al. (2008) mencionan que el aumento de los niveles de carbohidratos en la dieta no mejoró la tasa de crecimiento de (*Dicentrarchus labrax*). En este ensayo los peces que fueron alimentados con carbohidratos de 20 a 25 % tuvieron un crecimiento mayor al de los peces alimentados con 5 %. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Hemre et al. (2002), quienes indican que la incorporación de niveles adecuados de carbohidratos en la dieta para peces carnívoros mejora el crecimiento de los animales al sustentar las necesidades metabólicas de glucosa y disminuir la actividades de glucogénesis. Es posible que la disponibilidad de azúcares para el pez fue debido a la incorporación de la bacteria probiótica, la que es probable que haya mejorado la digestión de los almidones y no el pez, ya que totoaba como todos los peces marinos, tienen limitaciones en la capacidad digestiva para utilizar adecuadamente altos niveles de carbohidratos en su dieta,

como podría haber sido el caso de las dietas con 20 y 25 % de almidón sin la adición de la bacteria probiótica.

En este estudio no se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la supervivencia de los peces alimentados con los diferentes porcentajes de carbohidratos incluidos en la dieta adicionados con probiótico, ya que en todos los grupos experimentales se obtuvieron valores de 100 % de supervivencia. Ellis et al. (1991) trabajaron con juveniles de tambor rojo (*Sciaenops ocellatus*) alimentándolos con 6 dietas compuestas por diferentes concentraciones de lípidos y carbohidratos y obtuvieron supervivencias de entre 71 y 88 % sin encontrar diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que concluyeron que la supervivencia no se vio afectada por el consumo de carbohidratos o lípidos. Asimismo, Bañuelos Vargas en 2009 no encontró diferencias en la supervivencia en juveniles de curvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con 22 % de carbohidratos en dietas adicionadas con un probiótico durante 8 semanas de cultivo comparado con los peces del grupo control alimentados con 12 % de carbohidratos sin probiótico.

Estudios previos han demostrado que el uso de probióticos en las dietas para peces tienen efectos positivos sobre el crecimiento y el sistema inmunológico y por lo tanto influyen en la supervivencia de los peces (Wang et al., 2008). De la misma manera El-Haroun et al. (2006) y El-Dakar et al. (2007) evaluaron supervivencia, crecimiento, composición proximal y costo/beneficio del alimento en el cultivo del pez *Siganus rivulatus* y *O. niloticus*, respectivamente, con dietas

exoenergéticas e isoprotéicas adicionadas con probiótico *Bacillus subtilis*, y reportaron que los peces mostraron mejor supervivencia, crecimiento y utilización del alimento comparados con los controles que no contenían probiótico. Además de que los probióticos pueden mejorar los procesos digestivos, la supervivencia y el crecimiento tanto en peces (juveniles de lenguado *Solea senegalensis*) como en camarones (Ochoa-Solano y Olmos-Soto 2006; Saenz de Rodrigañez et al., 2009). Trejo-Ecamilla (2009) investigó en juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) el efecto de dietas con diferentes niveles de carbohidratos (10, 14, 18 y 22 %) adicionados con bacterias probióticas sobre el crecimiento y supervivencia. En este estudio se concluyó en que las dietas con carbohidratos como fuente de energía y adicionadas con bacterias probióticas mejoran tanto el crecimiento como la supervivencia de los peces. Lo anterior podría explicar la similitud en la supervivencia entre los grupos experimentales y la tendencia de crecimiento ascendente por efecto del aumento de carbohidratos en la dieta de los juveniles de *T. macdonaldi*.

VIII.2 Hematología

Los datos obtenidos durante este experimento de 8 semanas son el primer estudio hematológico realizado en juveniles de *T. macdonaldi* para encontrar el efecto de la dieta sobre la salud de los peces a través del conteo de glóbulos rojos y hematocrito en la sangre y la concentración de proteínas y glucosa en el plasma. Debido a que la información publicada sobre hematología en peces es escasa y solo se han reportado pocos estudios en peces dulceacuícolas y en

peces marinos con el fin de conocer los parámetros normales de estas variables hematológicas, para la interpretación de los resultados de este experimento se realizó un estudio documental sobre los parámetros normales de especies terrestres, de algunos datos de resultados en otras especies de peces de agua dulce y en solo algunas especies marinas. Por lo anterior, este trabajo presenta los primeros antecedentes en el conocimiento de las variables básicas de hematología y bioquímica sanguínea de juveniles de *T. macdonaldi* por efecto de una dieta formulada con diferentes niveles de carbohidratos adicionada con probiótico.

VIII.2.1 Glóbulos rojos y hematocrito

Los conteos de glóbulos rojos en la sangre de los juveniles de totoaba en el presente estudio se encontraron en un intervalo de 1.2 ± 0.3 a $1.7 \pm 0.3 \times 10^6$ cel/ μ l, lo que puede considerarse normal para organismos saludables, ya que como reporta Thrall et al. (2006), los conteos de glóbulos rojos pueden variar según el porcentaje de eritrocitos de reserva que los órganos hematopoyéticos liberan al torrente sanguíneo de acuerdo a los requerimientos del organismo en situaciones normales. Aunque sí existen diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los peces alimentados con 15 y 20 % de carbohidratos con los juveniles que recibieron los tratamientos D5 y D25, de acuerdo a Stockham et al. (2002) en un pez saludable el número de eritrocitos circulante va desde 1.0 hasta 3.0×10^6 cel/ μ l con un almacén en órganos hematopoyéticos suficiente para aumentar desde un 30 hasta un 50 % el número de eritrocitos circulantes. También, Thrall et al. (2006),

reportan que los conteos de glóbulos rojos pueden variar según el porcentaje de eritrocitos de reserva que los órganos hematopoyéticos hayan liberado al torrente sanguíneo de acuerdo a los requerimientos del organismo en situaciones normales. Por lo que, en el presente estudio los valores observados en el conteo total de glóbulos rojos pueden considerarse como normales para organismos saludables de totoaba.

Tavares-Días et al., trabajaron en el 2008 con *Brycon amazonicus*, especie tropical dulceacuícola, estudiando sus parámetros hematológicos. Los autores encontraron conteos de glóbulos rojos de $1.27 \pm 0.19 \times 10^6$ cel/ μ l. Asimismo, Buenaño (2010) trabajó con juveniles de trucha arcoíris y encontró conteos de glóbulos rojos de $1.63 \pm 0.05 \times 10^6$ cel/ μ l. Además, Bañuelos Vargas en (2009), encontró que corvina blanca, especie marina carnívora, alimentada con 22 % de carbohidratos en dietas adicionadas con un probiótico y diferentes niveles de proteína, presentó rangos de entre 1.5 ± 0.3 y $2.1 \pm 0.3 \times 10^6$ cel/ μ l de glóbulos rojos. Esto sugiere que las variaciones en el conteo de los glóbulos rojos en la sangre de los juveniles de totoaba por efecto de los carbohidratos en la dieta se mantuvieron dentro de los valores que pudieran considerarse normales para esta especie. Por otra parte, se puede observar en nuestros resultados que los peces con los niveles menos dispares entre carbohidratos y lípidos presentaron el mayor conteo de glóbulos rojos (D10, D15 y D20) a diferencia de los grupos de peces con contenidos bajos de carbohidratos con relación a lípidos (D5) y contenido alto de carbohidratos con relación a lípidos (D25). Lo que sugiere probablemente que

el balance de los nutrientes en la dieta formulada para los juveniles de totoaba influye en la movilización de los glóbulos rojos en la sangre.

El hematocrito representa el volumen del paquete celular por lo que está directamente relacionado con el conteo de glóbulos rojos en la sangre. Las diferencias significativas encontradas en el hematocrito de totoaba alimentadas con diferentes concentraciones de carbohidratos en la dieta se encontraron en un intervalo de entre 34 ± 4 y 39 ± 4 %. Las variaciones en los glóbulos rojos y el hematocrito se han asociado con la respuesta a un mecanismo de adaptación a la actividad metabólica de los animales, especialmente en la obtención de energía derivada de los nutrientes de la dieta como proteínas, lípidos y carbohidratos (Perez et al., 1983; Bastardo y Diaz, 2004; Hochachka y Lutz, 2005; Glencross, 2009). Bañuelos Vargas (2009) encontró un rango de entre 26.6 y 34.3 % sin diferencias significativas en el hematocrito de juveniles de corvina blanca alimentada con 22 % de carbohidratos en la dietas con diferentes niveles de proteína digestible (44, 40, 34 y 29 %) y adicionada con un probiótico. Debido a que las dietas empleadas en este trabajo de investigación fueron isoprotéicas e isoenergéticas con diferentes niveles de carbohidratos, ajustadas con el contenido de lípidos y adicionadas con un probiótico, es posible que las variaciones en los porcentajes de los hematocritos encontrados en los peces alimentados con los diferentes tratamientos se encuentren dentro de los rangos normales para organismos saludables y relacionados con los valores normales en el conteo de glóbulos rojos de los juveniles de totoaba en este estudio. Esto indica que las

variaciones en el hematocrito son un reflejo de la variaciones en el conteo de glóbulos rojos por la reacción fisiológica de cada pez para ajustar el metabolismo a su dieta, en particular a sus características de variaciones individuales como organismo (Glencross, 2009).

VIII.2.2 Proteína total, Albúmina y Globulinas

Existe información con respecto a valores de proteína plasmática en otras especies aunque no son investigaciones relacionadas con el efecto de la dieta sobre las variables hematológicas, como Buenaño (2010) quien trabajó con juveniles de trucha arcoíris y encontró concentraciones de proteína total de 4.24 ± 0.16 g/ dl. Asimismo, Ellis et al. (1981) reportan como normal un intervalo de proteínas plasmáticas de entre 1.68 g/ dl y 6.19 g/ dl en trucha farios (*Salmo trutta*) saludables.

Se ha reportado que la concentración de proteína plasmática total se relaciona directamente con el estado nutricional y la calidad del alimento (Atencio-Garcia et al., 2007). La proteína total en el plasma de juveniles de totoaba se encontró en un rango de entre 1.3 y 1.5 g/ dl. Bañuelos Vargas (2009) reportó un rango de entre 1.6 ± 0.1 y 3.5 ± 0.2 por efecto de las dietas para corvina blanca alimentada con 22 % de carbohidratos y diferentes niveles de proteína digestible (44, 40, 34 y 29 %) en la dieta, reportando que los valores de 3.5 y 2.5 g/ dl mostraron alteraciones en la salud de los peces por efecto de la dieta (22 % de carbohidratos y bajo contenido de proteína digestible 34 y 29 % respectivamente)

y los valores del resto de los grupos con promedio de 1.6 g/ dl se consideraron normales para curvina blanca. Por lo anterior, se puede inferir que los valores de proteína plasmática de los juveniles de totoaba se encontraron dentro de los valores normales para esta especie y que el contenido de carbohidratos en la dieta no afectó el contenido de proteína plasmática total.

La proteína total en el plasma está constituida principalmente por la albúmina (que es la proteína más abundante) y las globulinas, que representan en general parte de la respuesta inmunológica del organismo. Para ello se determina la relación albúmina - globulinas que en la mayoría de las especies terrestres (mamíferos, aves y reptiles) es alrededor de 1:1 (Thrall et al., 2006).

Buenaño (2010) trabajó con juveniles de trucha arcoíris y encontró concentraciones de albúmina de 2.18 ± 0.10 g/ dl con una relación entre albúmina y globulinas de 1.06. La concentración de albúmina plasmática en los juveniles de totoaba de este estudio mostró variaciones de 0.57 ± 0.09 a 0.77 ± 0.09 g/ dl, con mayor concentración en los peces alimentados con 15 % de carbohidratos y menor en los peces alimentados con 25 %. Sin embargo a pesar de las diferencias en la concentración plasmática de albúmina entre los grupos de peces alimentados con diferentes contenidos de carbohidratos, la relación albúmina y globulinas fluctuó entre 0.7 ± 0.07 y 1.3 ± 0.17 con mayor proporción en los peces alimentados con 15 % y 20 % de carbohidratos y menor en los peces alimentados con 5 %. Asimismo en estos 2 grupos de peces (D15 y D20) se observó mayor crecimiento. Sin embargo, las diferencias estadísticas encontradas en el

contenido de la proporción albúmina-globulinas en el plasma de los peces en este estudio se mantuvieron alrededor de 1:1. Esto apunta a que las variaciones encontradas pudieron darse sin alterar la salud de los peces y entenderse como variaciones intrínsecas o propias de los organismos (Thrall et al., 2006). No obstante, al comparar los grupos de peces con una relación albumina-globulinas de mayor proporción (D15 y D20), con el resultado de qué estos grupos de peces presentaron mayor concentración de albúmina y mejor crecimiento, podríamos inferir que es posible que estos resultados estén en concordancia a la cantidad de carbohidratos y lípidos en la dieta D15 (carbohidratos 15.3 y lípidos 15.7) y D20 (carbohidratos 20.8 y lípidos 14.3). Hemre et al (2002) indican que el balance en las formulaciones entre el contenido de lípidos y almidón afecta directamente la optimización en el uso de las proteínas de la dieta, dando como resultado un mejor crecimiento cuando el porcentaje de los carbohidratos y los lípidos se formulan con un contenido calórico similar.

VIII.2.3 Glucosa

La concentración de glucosa plasmática en peces varía ampliamente entre e intra especies. Las variaciones son dependientes de factores ambientales incluyendo luz, temporada y la temperatura ambiental, así como el tipo y cantidad de carbohidratos en la dieta (Hemre et al., 2002). En estudios realizados con Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) Barreto y Volpato (2006) reportaron concentraciones de glucosa en plasma sanguíneo de 39.6 y 34.2 mg/ dl, antes de someterlos a un estrés determinado, de este trabajo podemos entender que los

valores normales para tilapia del Nilo saludables se encuentran dentro del rango antes mencionado. Por otra parte, Urbinati et al. (2006) reportaron niveles de glucosa de 50.4 mg/ dl en organismos saludables y libres de estrés en *Brycon amazonicus*, un pez dulceacuícola tropical, siendo este dato similar a los encontrados en totoaba. Miller et al. (2007) encontraron niveles de glucosa de 75.6 mg/ dl en juveniles saludables de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), siendo muy cercano al límite superior observado en totoaba durante este experimento. Con un nivel de glucosa plasmática muy similar, Gómez-Manrique (2009) observaron valores de glucosa plasmática de 41 a 76 mg/ dl (*Piaractus mesopotamicus*) en peces saludables. En esta investigación se observó que la concentración de glucosa en el plasma de los peces fluctuó en un rango de 34 a 76 mg/ dl con una tendencia de aumento en la concentración de glucosa plasmática y del crecimiento respecto al contenido de carbohidratos en la dieta. No obstante a que los peces carnívoros alimentados con dietas con alto contenido en carbohidratos tienen pobre habilidad para manejar el exceso de glucosa (Hemre et al., 2002; Moksness et al., 2004), el metabolismo de los carbohidratos se ha advertido que varía en los peces dependiendo del nivel de carbohidratos en las dietas formuladas (Hemre, 1992). Esto indica que los juveniles de totoaba presentaron mayores niveles de glucosa en el plasma cuando fueron alimentados con más carbohidratos, y que esto favoreció el aprovechamiento metabólico de la glucosa mejorando el crecimiento de los organismos sin exceder los niveles de tolerancia para la especie durante 8 semanas de cultivo.

Por otro lado Bañuelos Vargas (2009) encontró una concentración de glucosa de entre 80 y 168 mg/ dl en corvina blanca alimentada con 22 % de almidón y adicionada con probiótico, reportando como normales valores de 80.1 a 113.7 mg /dl siendo estos niveles, sorprendentemente mayores a los encontrados en este estudio en totoaba, aunque ambas especies son peces marinos y carnívoros. En estudios realizados en salmón del Atlántico se observó significativamente mayor tolerancia a la glucosa en los peces en una temperatura ambiental de 12.5 °C comparado con peces en temperatura de 2 °C, asimismo se reportó un mejor crecimiento y mejor utilización de los carbohidratos como fuente de energía en los peces mantenidos a más altas temperaturas comparado con bajas temperaturas. (Hemre et al 1995; Hemre & Hansen 1998; Hemre et al 2002). Por lo anterior, las diferencias tanto en la temperatura corporal como en las tasas metabólicas de las especies y el contenido de azúcares en la dieta marcan la disparidad (Hemre 2002). La importancia de la temperatura se puede explicar por su influencia en la actividad metabólica en los peces, considerando que totoaba vive en un ambiente de más alta temperatura en comparación con la curvina blanca sería comprensible que la capacidad de ambas especies para manejar, aprovechar y tolerar niveles mayores de glucosa sea diferente, considerando que en su dieta natural los niveles de carbohidratos son menores. Aunque este trabajo no tiene como objetivo el estudio de la temperatura ambiental en relación a la utilización o metabolismo de los carbohidratos en la dieta y la concentración de glucosa plasmática, podríamos inferir que es posible explicar la diferencia en las concentraciones de glucosa plasmática entre corvina blanca reportada por Bañuelos Vargas (2009) y los valores estimados en juveniles de totoaba en este

estudio, ya que la corvina blanca es una especie distribuida en el Pacífico Norte y en condiciones de laboratorio se mantiene a una temperatura ambiental de 19 ± 1.0 °C, a diferencia de la totoaba que es una especie endémica del Golfo de Baja California que se distribuye hasta Sinaloa (Ruiz y Dura, 1985), por lo que en las condiciones de laboratorio la temperatura del agua se mantiene a 23 ± 1.0 ° C.

IX.- CONCLUSIONES

1 Crecimiento

Los juveniles de *T. macdonaldi* alimentados con dietas que contenían niveles de 15, 20 y 25 % de carbohidratos y suplementados con un probiótico, presentaron un crecimiento mayor a los peces alimentados con 5 % de carbohidratos.

2 Supervivencia

La dieta con 5, 10, 15, 20 y 25 % de almidón y suplementadas con un probiótico fueron adecuadas en juveniles de *T. macdonaldi* durante 8 semanas de cultivo experimental sin afectar la supervivencia de los peces.

3 Glóbulos Rojos

Los juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas isoprotéicas e isoenergéticas con niveles de almidón de 5, 10, 15, 20 y 25 %, y suplementadas con un probiótico mostraron conteos de glóbulos rojos dentro de un rango que se consideró normal para la especie.

4 Hematocrito

El hematocrito de los peces se mantuvo dentro de un rango aceptable para organismos saludables después de 8 semanas de cultivo.

5 Proteína Total, Albúmina y Razón Albúmina: Globulinas

Después de 8 semanas de cultivo con dietas isoprotéicas e isoenergéticas, adicionadas con 5, 10, 15, 20 y 25 % de almidón y suplementadas con un probiótico, los organismos mostraron concentraciones de proteína total con una tendencia de disminución en la sangre en relación incremento en el contenido de almidón en el alimento. Sin embargo, los valores a pesar de las diferencias significativas se estimaron dentro de un rango considerado normal para organismos saludables.

De la misma manera, la concentración de albúmina plasmática fluctuó de 0.57 a 0.77 mg/ dl, valores que pudieron considerarse dentro de un rango normal, debido a que la relación albúmina y globulinas fluctuó entre 0.7 ± 0.07 y 1.3 ± 0.17 en el plasma de los peces con una razón que se mantuvo alrededor de 1:1.

Sin embargo, se observó que el balance en las formulaciones entre el contenido de almidón y lípidos, afectó directamente la optimización en el uso de las proteínas de la dieta, debido a que los peces con mayor proporción de Al: Gb (D15, D20 y D25), presentaron mayor concentración de albúmina y mejor crecimiento cuando el porcentaje de los carbohidratos se formularon con un contenido calórico similar o mayor a los lípidos.

6 Glucosa

Al mismo tiempo, en esta investigación se observó que la concentración de glucosa en el plasma de los peces presentó una tendencia de aumento

proporcional al contenido de carbohidratos en la dieta, congruente con el crecimiento, lo que favoreció a los peces alimentados con D20 y D25 en la utilización metabólica de glucosa sin exceder el nivel de tolerancia en la sangre de los juveniles de totoaba.

Los resultados de este estudio apuntan a que cuando la cantidad de carbohidratos en la dieta fue similar o mayor al contenido de lípidos como en las dietas D15, D20 y D25, los juveniles de *T. macdonaldi* mejoraron su crecimiento y que la adición del probiótico favoreció la utilización de los carbohidratos y el aprovechamiento de las proteínas de la dieta, sin alterar la salud de los peces durante ocho semanas de cultivo.

X.-RECOMENDACIONES.

Se sugiere realizar estudios de investigación sobre los valores de las variables hematológicas y metabólicas de juveniles de *T macdonaldi* bajo condiciones óptimas tanto ambientales como nutrimentales en cautiverio, con el fin de poder establecer parámetros normales para esta especie y generar resultados del efecto de las variaciones nutricionales por las dietas que puedan estimar con mayor fidelidad la salud o no de los organismos.

XI.- REFERENCIAS

- Agüero-Grande, K.A., 2008. Uso del aceite de clavo como anestésico natural para el manejo rutinario de organismos marinos en laboratorio. Tesis de Licenciatura. UABC-FCM. Ensenada, B.C. 36.
- Atencio-García, V., Genes-López F., Madariaga-Mendoza, D., Pardo-Carrasco, S. 2007. Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio *Salminus affinis* (Pisces: Characidae) del río Sinú. Acta biol. Colomb. 12:27–40.
- Bañuelos-Vargas, 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-FCM. Ensenada B. C. México. 88.
- Barreto & Volpato. 2006. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. On-line versión ISSN1678-4510.
- Bastardo, A., Díaz, B.R. 2004. Parámetros hematológicos de la paragua *Chaetodipter usfaber*, Broussonet (Pices: Ehippidae), en condiciones de cultivo. Zootecnia Tropical, 22 (4):361-370.

- Bruno, D.W. 1986. Changes in serum parameters of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Richardson and atlantic salmon *Salmo salar* infected with *Renibacterium salmoninarum*. *J. of Fish Dis.* 9:205-211.
- Buenaño, C. M. 2010. Hemograma de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia de Napo Facultad de Biología Marina. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Bahía de Caráquez. Sede Regional Manabí. Ecuador. Serie Zoológica 6:1-14.
- Campbell, T.W., Ellis, C.K. 2007. Avian and Exotic Animal Hematology and Citology. Tercera Edición. Blackwell Publishing. USA. 287.
- De Pedro, N., Guijarro, A., López-Patiño, M.A., Martínez-Álvarez, R.M., Alonso-Bedate, M., Delgado, M.J. 2004. Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca (Tinca tinca): ritmos diarios y estacionales. Comunicación Científica CIVA.173-190.
- Chen, R. y et al. 2004. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). School of Agriculture, Fisheries, and Human

Sciences, University of Arkansas at Pine Bluff, Pine Bluff, AR 71601, USA.242 (1-4):553-569.

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

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

Ellis, A. 1981. Inmunología de teleósteos. Patología de los peces. Roberts, R. Edición mundial prensa, versión Española. Capítulo 4. 103-117.

Ellis, S.C., Reigh, R. C. 1991. Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*. 97 (4): 383-394.

FAO. 2006. Estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). 176.

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

Galarza, P.J.A. 2002. Aplicación de marcadores moleculares como estimadores de variabilidad genética poblacional de *Totoaba macdonaldi* en cautiverio y medio natural. Tesis de maestría. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 45.

Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, M.E., Ruas de Moraes, F., Martins, L.M. 2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonashydrophila*. *Aquaculture*. 271: 39–46.

Glencross B. D. 2009. Reduced water oxygen levels affect maximal feed intake, but not protein or energy utilization efficiency of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 15:1-8.

Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G. L. 2007. A feed is only as good as its ingredients, a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition*. 13:17–34.

Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. J. Clinical Pathol.* 56:35-39.

Gómez-Manrique W., (2009). Respuesta del *Piaractus mesopotamicus* a estímulos de persecución e hipoxia. Universidad de Los Llanos. Colombia Orinoquia, 13 (2), 93-100.

Hemre, G.I., Mommsen, T.P., Krogh, A., 2002. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition* 8:175-194.

Hidalgo M. C., A. Skalli., E. Abellan., M Arizcun., G. Cardenete., 2006. Dietary intake of probiotics and maslinic acid in juvenile dentex (*Dentex dentex*): effects on growth performance, survival and liver proteolytic activities. *Aquaculture Nutrition*.12 (4),256–266.

Hochachka, P.K., Lutz, P.L. 2005. Mechanism, origin and evolution of anoxia tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology: part B*, 130:435-459.

Jácome, M. I. 2000. Metabolismo activo como indicador de la aclimatación al ejercicio sostenido en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de maestría, UABC-FCM. Ensenada B. C. México. 72.

Jaramillo-Schadebrodt, N. 2005. Estudio Hematológico básico del puye (*Galaxias maculatus*, Jenyns 1842) en estado post larval y adulto. Tesis de licenciatura. UCT-FRN-EA. Temuco, Chile. 86.

Kumar, S., Pal A.K., Choudhury D., Yengkokpam S., Mukherjee S.C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. Fish & Shellfish Immunology, Volume 19(4):331-344.

Lee, Y.K., Nomoto, K., Salminen, S., Gorbach, S. L. 1999. Handbook of Probiotics. Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York, N.Y. U.S.A. 211.

López, L.M., Durazo, E., Rodríguez, G.A., True, C.D., Viana M.T. 2006. Proximate composition and fatty acid profile of wild and cultured juvenile *Totoaba macdonaldi*. Ciencias Marinas 32(2): 303–309.

- Lumlertdacha S., Lovell R. T., Shelby R.A., Lenz S. D., Kemppainen B.W., 1995. Growth, hematology, and histopathology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxins from *Fusarium moniliforme*. *Aquaculture* 130:2-3, 201-218.
- Lumsden, J. S., Clark P., Hawthorn S., Minamikawa M., Fenwick S. G., Haycock M., Wybourne B., 2002. Gastric dilation and air sacculitis in farmed chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Wallbaum). *Journal of Fish Diseases*. 25 (3):155–163.
- Marzouk, M.S., Nermeen, M.M. 2008. The influence of some probiotics on the growth performance and intestinal microbial flora of *O. niloticus* Dept. of Fish Diseases and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Giza, Egypt.
- Miller, L. 2007. Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 83 (4): 263-271.
- Morales, O.C. 1999. Descripción del desarrollo embrionario de *Totoaba macdonaldi* en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura, UABC-FCM. Ensenada B. C. México. 56.

- Moksness, E., Kjorsvik, E., Olsen, Y. 2004. Culture of cold-water marine fish. Blackwell Publishing. UK. 528.
- Moreira, I.S., Peres, H., Couto, A., Enes, P., Oliva-Teles, A., 2008. Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilization of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 274:153–160.
- Ochoa-Solano, L., Olmos-Soto, J., 2006. The functional property of *Bacillus* for shrimp feed. *Food Microbiology*, 23:519-525.
- Ortiz, V. D. 1999. Regulación iónica y osmótica de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* ante cambios de salinidad. Tesis de Maestría, UABC-FCM. Ensenada B. C. México. 67.
- Palmer, T.N., Ryman, B.E. 2006. Studies on oral glucose intolerance in fish. *Journal of Fish Biology*. 4 (2):311–319.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 2002. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 205, 287–299.

Perez, J., Ojeda, G., Antón, A., 1983. Blood parameters in fishes II. Oxygenaffinity, root effect, pH and the number of hemoglobin in some marine fishes of eastern Venezuela Bol. Inst Oceanog. Venezuela. Univ. Oriente. 22:1-7.

Rodríguez-Gómez, M. 2003. Composición proximal y contenido de ácidos grasos en juveniles de *Totoaba macdonaldi* del alto Golfo de California. Tesis de licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 44.

Rosales, J.F. y Ramírez G.E. 1987. Estado actual del conocimiento de la Totoaba (*Cyanoscion macdonaldi*, Gilbert 1890). Secretaría de Pesca. 1^{era} Ed. México, D. F. 42.

Ruiz, M. y Dura, F. 1985. Recursos pesqueros de las costas de México Ed. Limusa. 208.

Salinas I., Cuesta A., Angeles-Estban M., Mesenguer J., 2004. Dietary administration of *Lactobacillus delbrüeckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses.. Fish & Shellfish Immunology 19 (1): 67-77.

Sáenz de Rodrigáñez, M., Díaz-Rosales, P., Chabrillón, M., Smidt, H., Arijó, S., León-Rubio, J.M., Alarcón, F.J., Balebona, M.C., Moriñigo, M.A., Cara, J.B., Moyano, F.J., 2009. Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegale sole (*Solea senegalensis*. Kaup, 1858). *Aquaculture Nutrition* 15, 177-185.

Sandoval-Garibaldi, G. 2002. Desarrollo morfológico de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) durante su estadio larval. Tesis licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 57.

SEMARNAT-CONANP. 2007. Programa de Conservación y manejo Reserva de la Biósfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado. México.386.

Srivastava, A.K., Sahai, I. 1987. Effects of loading density on carbohydrate metabolism and hematology in the Indian freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Aquaculture*, 66:275-286.

Solórzano, Y. 2006. Efecto de niveles de alimentación sobre el crecimiento y composición química de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 44.

Stockham S.L., Scott M. A. 2002. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Iowa State Press. USA. 610.

Talamás, R. E. 2001. Efecto de la temperatura sobre la preferencia térmica y el metabolismo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de maestría, CICESE. Ensenada B. C., México. 63.

Tavares-Dias M., Gusmao Affonso E., Raghona Oliverira S., Luiz Marcon J., Imoto Egami M., 2008. Comparative study on hematological parameters of farmed matrinxã, *Brycon amazonicus* Spix and Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) with others Bryconinae species. Acta. Amaz. 38 (4): 799-806.

Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W. 2006. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Blackwell Publishing. USA. 518.

Trejo-Escamilla, I., 2008. Respuesta de crecimiento de juveniles de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) alimentados con dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con bacterias probióticas. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas, UABC Ensenada, B.C. 46.

Urbinati, E. C. & Carneiro, P. C., F. 2006. Sodium chloride added to transport water and physiological responses of *Matrinxã Brycon amazonicus* (Teleost: Characidae). *Acta Amazonica*, 24:569-572.

Vizcaíno-Pérez, E. 2008. Efecto en el crecimiento, consumo, sobrevivencia y composición proximal de juveniles de *Totoaba macdonaldi*, alimentados con dietas isoproteicas formuladas con distintos niveles de energía Tesis Licenciatura. UABC-FCM. Ensenada B. C., México. 38.

Wang, Y.B., Tian, Z.Q., Yao J.T., Li, W.F. 2008. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture* 277:203-207.